دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

"مقاله پژوهشی"

تفکیک زنبورهای عسل ایرانی (*Apis mellifera meda*) از زیرگونه‌های تجاری زنبورعسل با استفاده از ژن‌های ND1 و ND5

هیمن سلطانی[1]، جواد ناظمی رفیع[2] و بهروز حریقی[3]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشگاه کردستان
۲- استادیار، دانشگاه کردستان (نویسنده مسوول: j.nazemi@uok.ac.ir)
۳- دانشیار، دانشگاه کردستان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۶/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۸/۱۹
صفحه: ۱۵۷ تا ۱۶۸

چکیده

نمونه‌های زنبور عسل کارگر از ۲۶ ناحیه از ایران جمع آوری شد. هدف از این تحقیق ارزیابی ژن‌های ND1 (۶۳۰ bp) و ND5 (۶۳۰ bp) در تفکیک زنبورهای عسل ایرانی (*A. m. meda*) از زیرگونه‌های تجاری زنبورعسل (*A. m. carnica*، *A. m. ligustica*، *A. m. caucasica* و *A. m. mellifera*) بود. توالی‌های دو ناحیه ژنی ND1 و ND5 زنبورهای عسل ایرانی و زیرگونه‌های دیگر زنبور عسل با استفاده از روش‌های بیزی (Bayesian) و پارسیمونی (Parsimony) مورد ارزیابی قرار گرفتند. ژن‌های ND1 و ND5 به‌ترتیب هشت و پنج هاپلوتیپ را در جمعیت‌های زنبورعسل ایرانی نشان دادند. درخت فیلوژنی حاصل از ژن ND1، نمونه‌های زنبور عسل ایرانی را با استفاده از روش بیزی به چهار گروه (clade) تقسیم کرد. گروه اول شامل هاپلوتیپ ۱ (گلستان، خراسان جنوبی، کردستان، لرستان و مازندران)، گروه دوم شامل هاپلوتیپ ۲ (سیستان و بلوچستان)، گروه سوم شامل هاپلوتیپ ۳ (یزد و ایلام) و گروه چهارم شامل هاپلوتیپ‌های ٤ (اردبیل)، ٥ (کرمان)، ٦ (زنجان)، ۷ (کرمانشاه) و ۸ (بوشهر، آذربایجان غربی، چهار محال و بختیاری، قزوین، قم، همدان، هرمزگان، خراسان رضوی، خراسان شمالی، کهکلویه بویر احمد، خوزستان، مرکزی، سمنان، فارس) بودند. درخت‌های فیلوژنی حاصل از دو روش بیزی و پارسیمونی، توانایی بالاتر ناحیه ژنی ND1 را نسبت به ناحیه ژنی ND5 به اثبات رساندند به‌طوری که درخت‌های فیلوژنی حاصل از ژن ND1 توانستند زیر گونه‌های تجاری زنبورعسل را از نمونه‌های زنبورعسل ایرانی تفکیک کنند. همچنین با استفاده از روش پارسیمونی، تعداد بیشتری از مکان‌های نوکلئوتیدی حاوی اطلاعات مفید فیلوژنتیک (informative sites) در ND1 نسبت به ND5 شناسایی شد. تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA)، نتایج درخت‌های فیلوژنی ND1 حاصل از روش‌های بیزی و پارسیمونی و درخت فیلوژنی ND5 حاصل از روش بیزی را تأیید کرد. همچنین نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی به اثبات رساند که ژن ND1 نسبت به ژن ND5 کارایی بیشتری در تفکیک گروه‌های تکاملی زنبورعسل (Z-subgroup، A، M و C) داشت.

واژه‌های کلیدی: زنبورعسل ایرانی، ژن میتوکندری، فیلوژنی، ND1، ND5

مقدمه

زنبورعسل از نظر اقتصادی در تولید عسل و گرده‌افشانی گیاهان نقش مهمی دارد. زنبور عسل یکی از مهم‌ترین حشرات اجتماعی شناخته شده در جهان است که نقش مهمی در زمینه کشاورزی و پزشکی دارد (۲). استفاده از زهر زنبور عسل در درمان برخی بیماری‌ها، تولید ژل رویال، استفاده از پروتئین‌های ژل رویال در درمان انواع سرطان‌ها و افزایش سیستم ایمنی بدن انسان اهمیت زنبورعسل را بیشتر آشکار می‌کند (۴۹). همچنین زنبورعسل به‌عنوان شناساگر بیولوژیک[1] برای شناسایی مناطق آلوده به فلزات سنگین و آلاینده‌های زیست محیطی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۳۹). زنبورهای عسل (*Apis mellifera*) درسراسر اروپا، آفریقا و آسیا پراکنده شده‌اند. حدود ۳۱ زیر گونه *A. mellifera* در دنیا گزارش شده است (۱۱،۲۹،۴۶). بر اساس داده‌های مولکولی پنج گروه تکاملی A (*A. m. litorea*، *A. m. scutellata*) C (*A. m. intermissa*، *A. m. monticola*) M (*A. m. meda*، *A. m. ligustica*، *A. m. carnica*، *A. m. mellifera*) Z-subgroup (*A. m. caucasica* و *A. m. anatoliaca*، *A. m. iberiensis* و *A. m. jemenitica*) و Y (*A.m. lamarckii* و *A. m. syriaca*، *A. m. jemenitica* از اتیوپی) گزارش شده‌اند (۳،۱۰،۵۱).

زیر گونه زنبور عسل ایرانی (*A.m. meda*) در سرتاسر ایران پراکنده شده است (۱۴،۶۴). Ruttner (۴۶) شش جمعیت زنبورعسل ایرانی (*A. m. meda*) را از شمال ایران (مازندران)، شمال شرقی ایران (مشهد)، غرب ایران، جنوب شرقی ایران (کرمان)، عراق و جنوب شرقی ترکیه جمع‌آوری کرد. ورود ملکه‌های زنبورعسل خارجی می‌تواند باعث هیبریداسیون جمعیت‌های بومی زنبور عسل شود به‌طوری که ورود تعداد زیادی از این ملکه‌ها باعث کاهش تنوع جمعیت‌های محلی و همچنین کاهش خلوص ژنتیکی زیرگونه‌های بومی زنبور عسل می‌شود (۱۸،۵۵).

زنبور عسل ایرانی با شرایط اقلیمی و پوشش گیاهی ایران سازگار است و شرایط سخت زمستان‌های مناطق سردسیر ایران را به‌خوبی تحمل کرده و در پایان زمستان خود را آماده تکثیر می‌کند. اما نژادهای خارجی زنبور عسل این ویژگی را در ایران ندارند. همچنین زنبور عسل ایرانی به‌خوبی در مراتع، عسل تولید می‌کند در حالی که نژادهای خارجی چنین خصوصیتی ندارند. یکی دیگر از ویژگی‌های نژاد زنبورعسل ایرانی این است که خود را در برابر بیماری‌ها و آفاتی که سال‌ها با آن‌ها درگیر بوده سازگار کرده و مقاومت خوبی در برابر آن‌ها نشان می‌دهد. بنابراین حفاظت از زنبورهای عسل بومی ایران اهمیت زیادی دارد زیرا خصوصیات مفید این زنبورهای عسل بومی را می‌توان در مراکز تحقیقاتی مورد

1- Bioindicator

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-31]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.31.17.8]
[DOI: 10.52547/rap.12.31.157]

ارزیابی و مطالعه قرار داد (۲۲). حدود سال ۱۳۳۵ اولین ملکه خارجی وارد ایران شد. ملکه‌های وارداتی معمولاً نژاد خالص نبوده بلکه مخلوطی از دو یا چند نژاد بودند که مهم‌ترین آن‌ها میدنایت، استارلاین و تعداد اندکی از ملکه‌های نژاد خالص مانند زنبورعسل قفقازی (*A. m. caucasica*) و ایتالیایی (*A. m. ligustica*) وارد ایران شدند. اما خوشبختانه در سال ۱۳۶۵ واردات ملکه زنبورعسل به ایران متوقف شد (۱۴). بنابراین ارزیابی انواع مارکرهای ژنتیکی برای تمایز زیر گونه‌های تجاری زنبورعسل (*A. m. carnica*، *A. m. ligustica*، *A. m. mellifera* و *A. m. caucasica*) از زیر گونه زنبورعسل ایرانی اهمیت زیادی دارد (۸). روش‌های مولکولی، ابزارهای دقیقی برای شناسایی زیرگونه‌های زنبور عسل هستند (۲۷). نشانگرهای مختلفی از قبیل DNA میتوکندریایی و ریزماهواره‌ها در مطالعه زیرگونه‌ها و جمعیت‌های زنبورعسل به‌کار گرفته شده‌اند (۹) اما DNA میتوکندریایی به دلایلی از قبیل سرعت نوترکیبی پایین، نسخه‌های متعدد در سلول و استخراج آسان توجه زیادی را دربین محققان به خود جلب کرده است (۴،۳۳). محققان چندین ژن میتوکندریایی از قبیل COII و ناحیه بین ژنی (۱۲،۱۹،۲۸،۳۱،۳۴)، ND_2 (۴)، ND_4–ND_6 (۵۲)، ND_5 (۷)، COI (۷)، 16S rRNA (۱، ۸، ۳۸) و Cyt b (۱۷) را برای مطالعه زیرگونه‌ها و جمعیت‌های زنبور عسل به‌کار برده‌اند. نشانگرهای مولکولی دیگری از قبیل ریز ماهواره‌ها (۱۵،۳۶) و آلوزیم‌ها (۲۳،۲۷،۴۸) در مطالعه جمعیت‌ها و زیرگونه‌های زنبور عسل استفاده شده‌اند.

به‌علاوه محققان تغییرات ژنتیکی زنبورهای عسل ایرانی (*A.m. meda*) را با استفاده از ژن‌های COII و ناحیه بین ژنی (۲۵،۳۱)، ND_2 (۳۲)، نشانگرهای ریزماهواره (۶،۴۳،۴۷) و آلوزیم‌ها (۲۴) مورد بررسی قرار داده‌اند. تفکیک زنبورهای عسل ایرانی از زیرگونه‌های تجاری اهمیت زیادی دارد زیرا این موضوع باعث شناسایی نواحی استقرار زنبورهای عسل بومی و در نتیجه حفاظت بیشتر از آن‌ها می‌شود. هدف از این تحقیق، ارزیابی کارایی ژن‌های ND_1[1] و ND_5[2] در تفکیک جمعیت‌های زنبورعسل ایرانی *meda* (*A.m.*) از زیرگونه‌های تجاری زنبور عسل بود.

مواد و روش‌ها

۲۶ ناحیه از ایران برای جمع‌آوری نمونه‌های زنبور عسل ایرانی (*A. m. meda*) انتخاب شد (جدول ۱). از هر ناحیه ده کلنی و از هر کلنی هشت زنبورعسل کارگر (۸۰ عدد زنبور عسل از هر ناحیه) جمع‌آوری شد. زنبورهای عسل جمع‌آوری شده به‌وسیله اتیل استات کشته شدند و به داخل اتانول مطلق منتقل شدند. نمونه‌های زنبورهای عسل ایرانی به‌کار رفته در این تحقیق، از نمونه‌های زنبور عسل ایرانی تحقیق Modaber و همکاران (۳۱) به‌دست آمد. بنابراین زیرگونه نمونه‌های زنبورعسل ایرانی *meda* (*A. m.*) تأیید شده بود. نمونه‌ها در دمای ۲۰- نگهداری شدند.

جدول ۱- طول و عرض جغرافیایی نواحی نمونه‌برداری زنبورعسل ایرانی و شماره‌های دسترسی ژن‌های ND1 و ND5 ثبت شده در بانک ژن
Table 1. Longitude and latitude of sampled areas of Iranian honeybees and accession numbers of registered genes of ND1 and ND5 in GneBank

نام منطقه	طول و عرض جغرافیایی	شماره دسترسی ND5	شماره دسترسی ND1
کرمانشاه	34°24' N 45°52' E	MT897929	MT897955
ایلام	33°65' N 46°43 E	MT897923	MT897949
خوزستان	32°08' N 48°34' E	MT897930	MT897956
اردبیل	39°23' N 48°22' E	MT897914	MT897940
گلستان	37° 11'N 54°94' E	MT897920	MT897946
کهکلویه و بویراحمد	30°82' N 50°56' E	MT897927	MT897953
مازندران	36°65' N 53°01' E	MT897934	MT897960
کردستان	35°31' N 46°99' E	MT897931	MT897957
همدان	34°58' N 48°30' E	MT897921	MT897947
لرستان	33°49' N 48°43' E	MT897932	MT897958
مرکزی	34°06' N 49°78' E	MT897933	MT897959
قم	34°56' N 50°93' E	MT897919	MT897945
خراسان رضوی	36°12' N 59°36' E	MT897925	MT897951
خراسان شمالی	37°20' N 56°50' E	MT897926	MT897952
سمنان	34°25' N 51°52' E	MT897935	MT897961
یزد	31°45' N 54°12' E	MT897938	MT897964
زنجان	36°22' N 48°23' E	MT897939	MT897965
چهارمحال و بختیاری	32°28' N 50°98' E	MT897917	MT897943
فارس	28°81' N 52°60' E	MT897936	MT897962
آذربایجان غربی	38°63' N 44°88' E	MT897915	MT897941
بوشهر	29°29' N 51°21'E	MT897916	MT897942
هرمزگان	27°25' N 57°11' E	MT897922	MT897948
قزوین	36°02' N 49°38' E	MT897918	MT897944
خراسان جنوبی	32°53' N 59°13' E	MT897924	MT897950
سیستان و بلوچستان	29°49' N 60°78' E	MT897937	MT897963
کرمان	32°55' N 59°29' E	MT897928	MT897954

1- NADH dehydrogenase subunit 1

2- NADH dehydrogenase subunit 5

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-31]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.31.17.8]
[DOI: 10.52547/rap.12.31.157]

DNA از قفسه سینه و پاهای زنبورهای عسل کارگر بالغ با استفاده از روش CTAB استخراج شد (۱۶). پرایمرهای ژن ND1 طراحی شدند و پرایمرهای ژن ND5 از تحقیق Arias و همکاران (۵) بدست آمد. از هر کلنی یک زنبورعسل کارگر به‌طور تصادفی انتخاب و ژن‌های ND1 و ND5 با استفاده از پرایمرهای مورد نظر، به‌وسیله PCR تکثیر شدند (جدول ۲). توالی‌یابی محصول PCR با استفاده از روش Sanger و در شرکت Bioneer کره جنوبی انجام شد. ژن‌های توالی‌یابی شده ND_1 و ND_5 در بانک ژن NCBI به ثبت رسیدند. به‌علاوه، توالی‌های نوکلئوتیدی زیرگونه‌های دیگر زنبورعسل برای مقایسه با زنبورهای عسل ایرانی از بانک ژن تهیه شدند. توالی‌های هر ژن وارد نرم افزار MEGA 6.0 (۵۰) شده و به صورت فایلی با فرمت FASTA ذخیره شد. سپس توالی‌ها با استفاده از روش Muscle هم‌تراز شدند (۴۵). گروه‌های تکاملی (A، C، M و Z-subgroup) و زیر گونه‌های زنبورعسل با استفاده از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) و نرم‌افزار PAST 3.19 مورد مقایسه قرار گرفتند (۲۰). برای رسم درخت فیلوژنتیک با روش بیزی بهترین مدل با استفاده از نرم‌افزار Jmodel Test 2.1.7 انتخاب شد (۴۱). درخت‌های فیلوژنتیک ژن‌های ND1 (۶۳۰ bp) و ND5 (۶۳۰ bp) با استفاده از روش‌های بیزی و پارسیمونی به‌ترتیب با نرم‌افزارهای Mr Bayes 3.2 و PAUP 4.0 b10 ترسیم شد. در رسم درخت با روش بیزی از مدل جایگزینی HKY+G، توزیع گاما و ۱,۰۰۰,۰۰۰ تکرار استفاده شد.

در روش پارسیمونی از روش bootstrap با ۱۰۰۰ تکرار و الگوریتم TBR[1] در رسم درخت استفاده شد. فواصل ژنتیکی بین زیر گونه‌های زنبورعسل و زنبورهای عسل ایرانی (*A. m. meda*) با استفاده از نرم‌افزار MEGA 6.0 (۵۰) محاسبه شد. مکان‌های نوکلئوتیدی با اطلاعات مفید فیلوژنی (informative sites) به موقعیت‌های نوکلئوتیدی اطلاق می‌شود که قادر به تفکیک نمونه‌ها، زیرگونه‌ها و گونه‌ها می‌باشد (۳۵). تعداد مکان‌های نوکلئوتیدی با اطلاعات مفید فیلوژنی (informative sites) در توالی‌های نوکلئوتیدی ژن‌های ND1 و ND5 (زنبورهای عسل ایرانی با زیرگونه‌های دیگر زنبورعسل) توسط نرم‌افزار PAUP 4.0 و روش پارسیمونی به‌دست آمد. جایگزینی‌های نوکلئوتیدی پورین با پورین را جایگزینی هم‌جنس و جایگزینی‌های نوکلئوتیدی پورین با پیریمیدین را جایگزینی ناهم‌جنس می‌نامند. مدل‌های تکامل مولکولی انواع فراوانی‌های جایگزینی‌های نوکلئوتیدی (جایگزینی هم‌جنس و ناهم‌جنس) را در ایجاد روابط فیلوژنتیک به‌کار می‌گیرند (۳۵). نسبت جایگزینی‌های هم‌جنس به ناهم‌جنس transversion rate (transition–ratio) در توالی‌های نوکلئوتیدی ژن‌های ND_1 و ND5 (زنبورهای عسل ایرانی با زیرگونه‌های دیگر زنبور عسل) با استفاده از روش آماری Maximum likelihood، مدل HKY85، توزیع گاما و با نرم‌افزار MEGA 6.0 به‌دست آمد. به‌علاوه، پارامترهای تنوع ژنتیکی از قبیل تنوع نوکلئوتیدی و تعداد هاپلوتیپ‌های ژن‌های ND_1 و ND_5 در جمعیت‌های زنبورعسل ایرانی و با استفاده از نرم‌افزار dnaSP5 محاسبه شد.

جدول ۲- چرخه‌های حرارتی واکنش PCR برای تکثیر نواحی ژنی ND1 و ND5

Table 2. The thermal cycles for amplification of ND1 and ND5 genes in PCR

(ND1)
5´ TATTGAGGTGCAACAGTTAT 3´ (forward)
5´ AGGATCGTAAAGGTCCTAAT 3´ (reverse)

تعداد چرخه	مرحله	زمان	دما (C°)
۱	واسرشت اولیه	پنج دقیقه	۹۴
۳۵	واسرشت	یک دقیقه	۹۴
	اتصال	۲۰ ثانیه	۴۸
	بسط	۲ دقیقه	۶۴
۱	بسط نهایی	۱۰ دقیقه	۶۴

(ND5)
5´ AATTATTATTATCATCATAG 3´ (forward)
5´ TTAATTGGGATAATTTCGTG 3´ (reverse)

تعداد چرخه	مرحله	زمان	دما (C°)
۱	واسرشت اولیه	پنج دقیقه	۹۴
۳۵	واسرشت	یک دقیقه	۹۴
	اتصال	۲۰ ثانیه	۴۸
	بسط	۲ دقیقه	۶۴
۱	بسط نهایی	۱۰ دقیقه	۶۴

نتایج و بحث

پارامترهای تنوع ژنتیکی ژن‌های ND_1 و ND_5 در جمعیت‌های زنبور عسل ایرانی (*A.m. meda*) مورد مقایسه قرار گرفتند. ژن‌های ND_1 و ND_5 به‌ترتیب هشت و پنج هاپلوتیپ را در جمعیت‌های زنبور عسل ایرانی شناسایی کردند. به‌علاوه، تنوع نوکلئوتیدی نواحی ژنی ND_1 و ND_5 در جمعیت‌های زنبور عسل ایرانی به‌ترتیب ۰/۰۰۲۲ و ۰/۰۰۱۵ بودند (جدول ۳).

1- Tree Bisection Reconnection

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-31]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.31.17.8]
[DOI: 10.52547/rap.12.31.157]

جدول ۳- پارامترهای تنوع ژنتیکی زنبورهای عسل ایرانی و برخی زیرگونه‌های زنبورعسل بر اساس ژن‌های ND1 و ND5

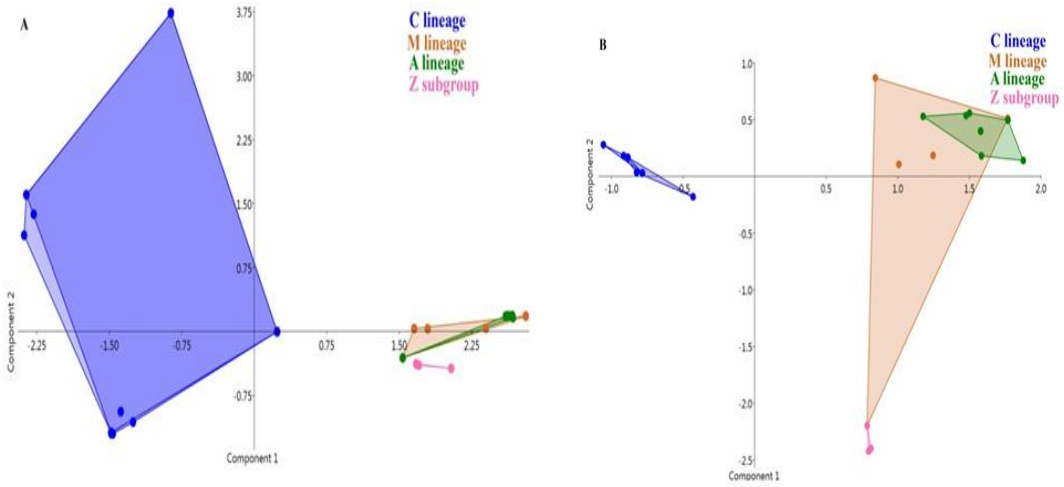
Table 3. Genetic diversity parameters of the Iranian honeybees (*A. m. meda*) and other honeybee subspecies based on ND1 and ND5

ژن ND1	S[1]	H[2]	π[3]	k[4]
زنبورهای عسل ایرانی	۶	۸	۰/۰۰۲۲	۱/۴
A. m. scutellata	۱۴	۵	۰/۰۰۷۳	۵/۸
A. m. capensis	۱	۲	۰/۰۰۰۵	۰/۴
A. m. mellifera	۲۴	۴	۰/۰۱۳۹	۱۱
ژن ND5	S	H	π	k
زنبورهای عسل ایرانی	۶	۵	۰/۰۰۱۵	۰/۹۷
A. m. scutellata	۵	۵	۰/۰۰۴۱	۲/۶
A. m. capensis	۲	۳	۰/۰۰۱۵	۱
A. m. mellifera	۱۶	۵	۰/۰۱۱۲	۷/۰۶

۱- تعداد مکان‌های متغیر نوکلئوتیدی (variable site)، ۲- تعداد هاپلوتیپ‌ها، ۳- تنوع نوکلئوتیدی، ۴- میانگین تفاوت‌های نوکلئوتیدی

نسبت جایگزینی نوکلئوتیدی هم‌جنس به ناهم‌جنس (transition–transversion rate ratio) در توالی‌های ژن‌های ND_1 و ND5 (زنبورهای عسل ایرانی با زیرگونه‌های دیگر زنبور عسل) محاسبه شد. نتایج نشان داد که مقادیر نسبت جایگزینی نوکلئوتیدی هم‌جنس به ناهم‌جنس در ژن‌های ND_1 و ND_5 به‌ترتیب ۳/۶۴ و ۳/۲۲ بودند. با استفاده از روش پارسیمونی، تعداد مکان‌های نوکلئوتیدی حاوی اطلاعات مفید فیلوژنتیک در ژن‌های ND_1 و ND_5 (زنبورهای عسل ایرانی با زیرگونه‌های دیگر زنبور عسل) به‌دست آمد. نتایج نشان داد که تعداد مکان‌های نوکلئوتیدی حاوی اطلاعات مفید فیلوژنتیک در ژن‌های ND_1 و ND_5 به‌ترتیب ۸۰ و ۶۲ بودند.

توانایی ژن‌های ND_1 و ND_5 در تفکیک گروه‌های تکاملی *A. mellifera* (Z subgroup، M، C، A) با استفاده از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) مورد مقایسه قرار گرفتند. نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) ژن ND_1 نشان داد که گروه‌های تکاملی A و M با یک‌دیگر هم‌پوشانی داشتند در صورتی‌که گروه‌های تکاملی C و Z subgroup از یک-دیگر تفکیک شدند (شکل ۱، A). همچنین نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) ژن ND_5 نشان داد که گروه تکاملی M با گروه‌های تکاملی A و Z subgroup هم‌پوشانی داشت (شکل ۱، B). درخت فیلوژنی حاصل از ژن ND_1 نمونه‌های زنبور عسل ایرانی را با استفاده از روش بیزی، به چهار گروه (Clade) تقسیم کرد. گروه اول شامل هاپلوتیپ ۱ (گلستان، خراسان جنوبی، کردستان، لرستان و مازندران)، گروه دوم شامل هاپلوتیپ ۲ (سیستان و بلوچستان)، گروه سوم شامل هاپلوتیپ ۳ (یزد و ایلام) و گروه چهارم شامل هاپلوتیپ‌های ۴ (اردبیل)، ۵ (کرمان)، ۶ (زنجان)، ۷ (کرمانشاه) و ۸ (بوشهر، آذربایجان غربی، چهار محال و بختیاری، قزوین، قم، همدان، هرمزگان، خراسان رضوی، خراسان شمالی، کهکلویه و بویر احمد، خوزستان، مرکزی، سمنان، فارس) بودند. به علاوه با استفاده از روش بیزی، درخت فیلوژنی حاصل از ژن ND_1 زیرگونه‌های تجاری زنبورعسل (*A. m. ligustica*، *A. m. carnica*، *A. m. caucasica* و *A. m. mellifera*) را از نمونه‌های زنبورعسل ایرانی تفکیک کرد (شکل ۲، A). اما درخت فیلوژنی حاصل از ژن ND_5 نتوانست زیرگونه‌های تجاری *A. m. carnica* و *A. m. caucasica* را از نمونه‌های زنبورعسل ایرانی (*A. m. meda*) تفکیک نماید (شکل ۲، B).

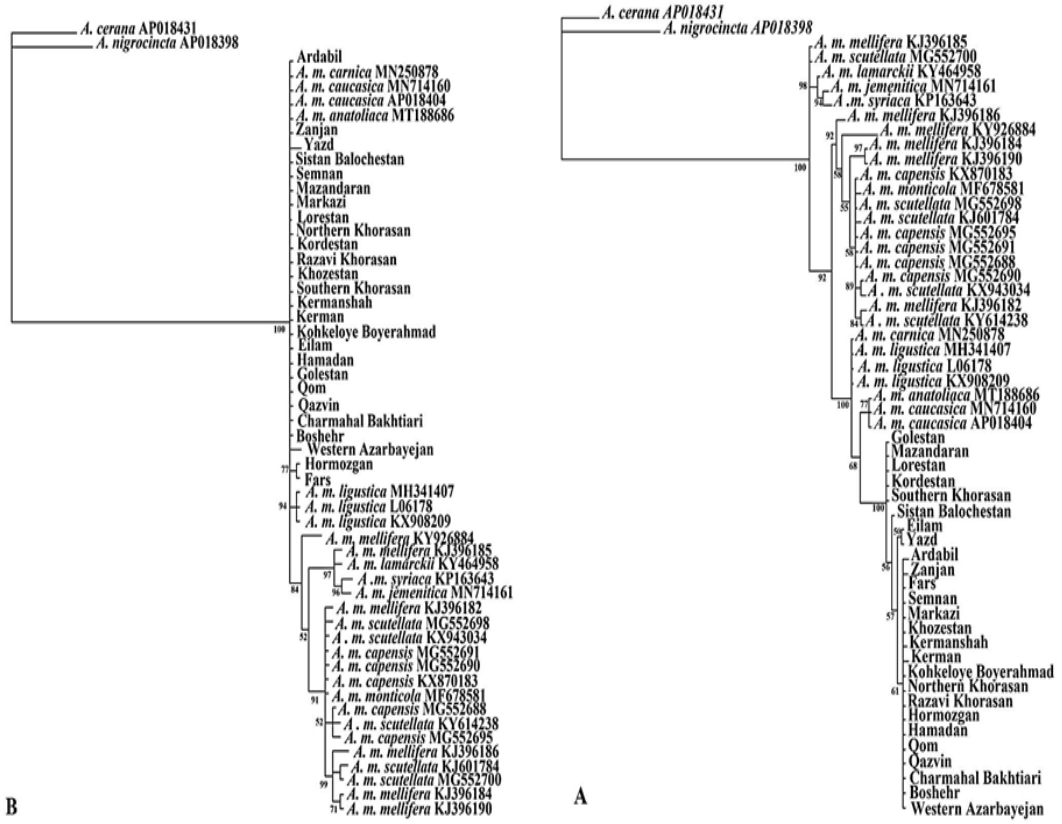


شکل ۱- مقایسه گروه‌های تکاملی زنبور عسل (*Apis mellifera*) با استفاده از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) در ژن‌های ND1 (A) و ND5 (B)

Figure 1. Comparison of evolutionary lineages of Apis mellifera using principle component analysis in ND1 (A) and ND5 (B)

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-31]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.31.17.8]
[DOI: 10.52547/rap.12.31.157]

با استفاده از روش پارسیمونی، درخت فیلوژنی حاصل از ژن ND1 نمونه‌های زنبور عسل ایرانی را به دو گروه تقسیم نمود و زیرگونه‌های تجاری زنبور عسل را از جمعیت‌های زنبور عسل ایرانی تفکیک کرد (شکل ۳، A). اما درخت فیلوژنی حاصل از ژن ND5 نه تنها نتوانست زیرگونه‌های تجاری زنبور عسل *A. m. carnica* و *A. m. caucasica* و برخی از جمعیت‌های *A. m. mellifera* را از زنبورهای عسل ایرانی تفکیک کند بلکه *A. m. monticola*، *A. m. capensis* و برخی از جمعیت‌های *A. m. scutellata* را نیز نتوانست از زنبورهای عسل ایرانی تفکیک کند (شکل ۳، B).



شکل ۲- درخت فیلوژنی زنبورهای عسل ایرانی و زیرگونه‌های زنبورعسل (*Apis mellifera*) در ژن‌های ND1 (A) و ND5 (B) با استفاده از روش بیزی. گونه‌های *Apis cerana* و *A. nigrocincta* به‌عنوان گروه خارجی (outgroup) در نظر گرفته شدند.

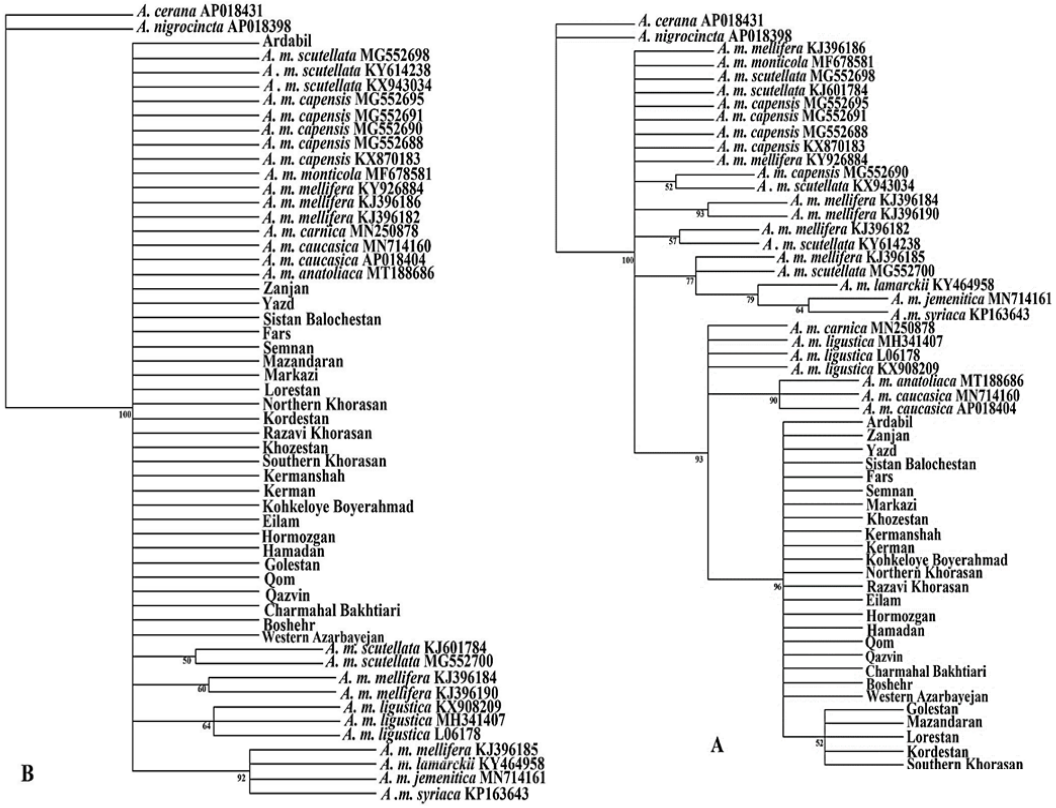
Figure 2. The phylogenetic tree of Iranian honeybees and subspecies of *Apis mellifera* in ND1 (A) and ND5 (B) genes using Bayesian method. *Apis cerana* and *A. nigrocincta* were considered as outgroups.

تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA)، نتایج درخت‌های فیلوژنی ND1 حاصل از روش‌های بیزی و پارسیمونی و نتایج درخت فیلوژنی ND5 حاصل از روش بیزی را تأیید کرد به‌طوری که PCA ژن ND_1 زیرگونه‌های تجاری *A. m. carnica*، *A. m. ligustica*، *A. m. mellifera* و *A. m. caucasica* را از نمونه‌های زنبور عسل ایرانی *A.m. meda*) متمایز کرد (شکل ۴، A)؛ اما PCA ژن ND_5 نشان داد که زیرگونه‌های تجاری *A. m. carnica* و *caucasica* *A. m.* با نمونه‌های زنبور عسل ایرانی هم‌پوشانی داشتند (شکل ۴، B). با استفاده از ژن ND_1 مقایسه‌ای بین فواصل ژنتیکی زنبورهای عسل ایرانی و زیرگونه‌های دیگر زنبور عسل انجام شد. بیشترین فواصل ژنتیکی بین *A. m. syriaca* و نمونه‌های زنبورعسل ایرانی مشاهده شد (۰/۰۳۶ تا ۰/۰۴۵) (جدول ۴).

درخت‌های فیلوژنی حاصل از دو روش بیزی و پارسیمونی، توانایی بالاتر ناحیه ژنی ND1 را نسبت به ناحیه ژنی ND5 به اثبات رساندند به‌طوری که درخت‌های فیلوژنی حاصل از ژن ND1 توانستند زیرگونه‌های تجاری زنبور عسل را از نمونه‌های زنبور عسل ایرانی تفکیک کنند. همچنین نتایج مطالعه حاضر به اثبات رساند که ND1 نسبت به ND5 تفکیک بهتری را در گروه‌های تکاملی زنبورعسل (Z subgroup، M، C، A) ایجاد نمود زیرا در نواحی ژنی ND1 و ND5 به ترتیب دو (M با A) و سه گروه تکاملی (M با A و Z-subgroup) با یکدیگر هم‌پوشانی داشتند. مطالعه Dwivedi and Gadagkar (۱۳) نشان دادند که از

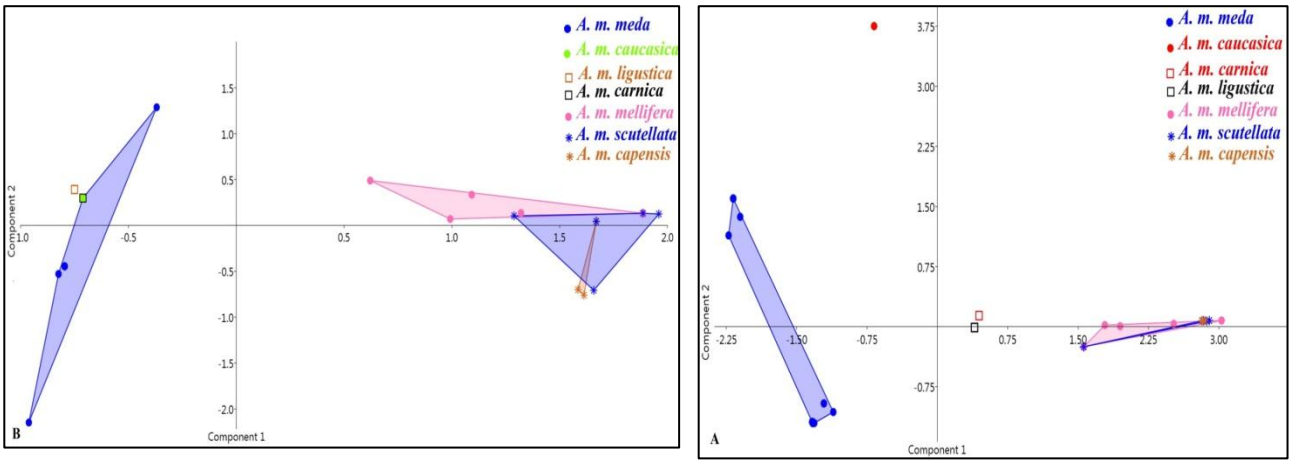
[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-31]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.31.17.8]
[DOI: 10.52547/rap.12.31.157]

بین پارامترهایی مثل طول توالی، ترکیب بازهای نوکلئوتیدی و نسبت جایگزینی نوکلئوتیدی هم‌جنس به ناهم‌جنس، پارامتر جایگزینی نوکلئوتیدی هم‌جنس به ناهم‌جنس تأثیر بیشتری را بر دقت روابط فیلوژنتیک داشت. به‌طوری‌که هرچقدر نسبت این جایگزینی نوکلئوتیدی بیشتر بود، روابط فیلوژنتیک دقیق‌تری بین تاکسون‌ها در درخت فیلوژنی ایجاد می‌شد.



شکل ۳- درخت فیلوژنی زنبورهای عسل ایرانی و زیرگونه‌های زنبورعسل (*Apis mellifera*) در ژن‌های ND1 (A) و ND5 (B) با استفاده از روش پارسیمونی. گونه‌های *Apis cerana* و *A. nigrocincta* به‌عنوان گروه خارجی (outgroup) در نظر گرفته شدند.

Figure 3. The phylogenetic tree of Iranian honeybees and subspecies of *Apis mellifera* in ND1 (A) and ND5 (B) genes using Parsimony method. *Apis cerana* and *A. nigrocincta* were considered as outgroups.



شکل ۴- مقایسه زنبورهای عسل ایرانی با زیرگونه‌های تجاری زنبورعسل (*A. m. carnica*، *A. m. ligustica*، *A. m. caucasica* و *A. m. mellifera*) با استفاده از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) در ژن‌های ND1 (A) و ND5 (B)

Figure 4. Comparison of Iranian honeybees with commercial honeybee subspecies (*A. m. carnica*, *A. m. ligustica*, *A. m. caucasica* and *A. m. mellifera*) using principle component analysis (PCA) in ND1 (A) and ND5 (B)

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-31]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.31.17.8]
[DOI: 10.52547/rap.12.31.157]

جدول ۴- فواصل ژنتیکی بین زنبورهای عسل ایرانی و زیرگونه‌های زنبور عسل با استفاده از ژن ND1

Table 4. Genetic distances among Iranian honeybees and subspecies using ND1 gene

Iranian honey bees and subspecies	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1-Ardabil																
2-Western Azarbayejan	۰/۰۰۲															
3-Boshehr	۰/۰۰۲	.														
4-Charmahal Bakhtiari	۰/۰۰۲	.	۰													
5-Gazvin	۰/۰۰۲	.	۰	۰												
6-Qom	۰/۰۰۲	.	۰	۰	۰											
7-Golestan	۰/۰۰۷	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵										
8-Hormozgan	۰/۰۰۲	۰/۰۰۰	۰	۰.۰۰۰	۰	۰	۰/۰۰۵									
9-Eilam	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲								
10-Razavi Khorasan	۰/۰۰۲	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۰۰۵	۰	۰/۰۰۲							
11-Northern Khorasan	۰/۰۰۲	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۰۰۵	۰	۰/۰۰۲	۰						
12-Kohkeloye Boyerahmad	۰/۰۰۲	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۰۰۵	۰	۰/۰۰۲	۰	۰					
13-Kerman	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۷	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲				
14-Kermanshah	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳			
15-Khozestan	۰/۰۰۲	۰/۰۰۰	۰	۰	۰	۰	۰/۰۰۵	۰	۰/۰۰۲	۰	۰	۰	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲		
16-Kordestan	۰/۰۰۷	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵	۰	۰/۰۰۵	۰/۰۰۳	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵	۰/۰۰۷	۰/۰۰۳	۰/۰۰۵	
17-Lorestan	۰/۰۰۷	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵	۰	۰/۰۰۵	۰/۰۰۳	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵	۰/۰۰۷	۰/۰۰۳	۰/۰۰۵	۰
18-Markazi	۰/۰۰۲	۰	۰	۰.۰۰۰	۰.۰۰۰	۰	۰/۰۰۵	۰.۰۰۰	۰/۰۰۲	۰.۰۰۰	۰	۰	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰	۰/۰۰۵
19-Mazandaran	۰/۰۰۷	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵	۰	۰/۰۰۵	۰/۰۰۳	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵	۰/۰۰۷	۰/۰۰۳	۰/۰۰۵	۰
20-Semnan	۰/۰۰۲	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۰۰۵	۰	۰/۰۰۲	۰	۰	۰	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰	۰/۰۰۵
21-Shiraz	۰/۰۰۲	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۰۰۵	۰	۰/۰۰۲	۰	۰	۰	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰	۰/۰۰۵
22-Sistan Balochestan	۰/۰۰۵	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳	۰/۰۰۵	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲
23-Yazad	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳
24-Zanjan	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۷	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۷
25-*A. m. caucasica* MN714160	۰/۰۲۱	۰/۰۱۹	۰/۰۱۹	۰/۰۱۹	۰/۰۱۹	۰/۰۱۹	۰/۰۱۳	۰/۰۱۹	۰/۰۱۷	۰/۰۱۹	۰/۰۱۹	۰/۰۱۹	۰/۰۲۱	۰/۰۱۷	۰/۰۱۹	۰/۰۱۳
26-*A. m. carnica* MN250878	۰/۰۱۵	۰/۰۱۳	۰/۰۱۳	۰/۰۱۳	۰/۰۱۳	۰/۰۱۳	۰/۰۱۵	۰/۰۱۳	۰/۰۱۲	۰/۰۱۳	۰/۰۱۳	۰/۰۱۳	۰/۰۱۵	۰/۰۱۵	۰/۰۱۳	۰/۰۱۵
27-*A. m. ligustica* KX908209	۰/۰۱۵	۰/۰۱۳	۰/۰۱۳	۰/۰۱۳	۰/۰۱۳	۰/۰۱۳	۰/۰۱۵	۰/۰۱۳	۰/۰۱۲	۰/۰۱۳	۰/۰۱۳	۰/۰۱۳	۰/۰۱۵	۰/۰۱۵	۰/۰۱۳	۰/۰۱۵
28-*A. m. mellifera* KJ396182	۰/۰۳۶	۰/۰۳۴	۰/۰۳۴	۰/۰۳۴	۰/۰۳۴	۰/۰۳۴	۰/۰۳۷	۰/۰۳۴	۰/۰۳۲	۰/۰۳۴	۰/۰۳۴	۰/۰۳۴	۰/۰۳۶	۰/۰۳۷	۰/۰۳۴	۰/۰۳۷
29-*A. m. jemenitica* MN714161	۰/۰۳۷	۰/۰۳۵	۰/۰۳۵	۰/۰۳۵	۰/۰۳۵	۰/۰۳۵	۰/۰۴۲	۰/۰۳۵	۰/۰۳۸	۰/۰۳۵	۰/۰۳۵	۰/۰۳۵	۰/۰۳۷	۰/۰۳۸	۰/۰۳۵	۰/۰۴۲
30-*A. m. lamarckii* KY464958	۰/۰۳۳	۰/۰۳۱	۰/۰۳۱	۰/۰۳۱	۰/۰۳۱	۰/۰۳۱	۰/۰۳۸	۰/۰۳۱	۰/۰۳۴	۰/۰۳۱	۰/۰۳۱	۰/۰۳۱	۰/۰۳۳	۰/۰۳۴	۰/۰۳۱	۰/۰۳۸
31-*A. m. syriaca* KP163643	۰/۰۴۰	۰/۰۳۸	۰/۰۳۸	۰/۰۳۸	۰/۰۳۸	۰/۰۳۸	۰/۰۴۵	۰/۰۳۸	۰/۰۴۰	۰/۰۳۸	۰/۰۳۸	۰/۰۳۸	۰/۰۴۰	۰/۰۴۰	۰/۰۳۸	۰/۰۴۵
32-*A. m. capensis* KX870183	۰/۰۳۲	۰/۰۳۰	۰/۰۳۰	۰/۰۳۰	۰/۰۳۰	۰/۰۳۰	۰/۰۳۲	۰/۰۳۰	۰/۰۲۸	۰/۰۳۰	۰/۰۳۰	۰/۰۳۰	۰/۰۳۲	۰/۰۳۲	۰/۰۳۰	۰.۰۳۲
33-*A. m. scutellata* MG552700	۰/۰۳۱	۰/۰۳۰	۰/۰۳۰	۰/۰۳۰	۰/۰۳۰	۰/۰۳۰	۰/۰۳۶	۰/۰۳۰	۰/۰۳۲	۰/۰۳۰	۰/۰۳۰	۰/۰۳۰	۰/۰۳۱	۰.۰۳۲	۰.۰۳۰	۰.۰۳۶

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-31]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.31.17.8]
[DOI: 10.52547/rap.12.31.157]

ادامه جدول ۴- فواصل ژنتیکی بین زنبورهای عسل ایرانی و زیرگونه‌های زنبور عسل با استفاده از ژن ND1

Table 4. (continued)- Genetic distances among Iranian honeybees and subspecies using ND1 gene

Iranian honey bees and subspecies	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
1-Ardabil																
2-Western Azarbayejan																
3-Boshehr																
4-Charmahal Bakhtiari																
5-Gazvin																
6-Qom																
7-Golestan																
8-Hormozgan																
9-Eilam																
10-Razavi Khorasan																
11-Northern Khorasan																
12-Kohkeloye Boyerahmad																
13-Kerman																
14-Kermanshah																
15-Khozestan																
16-Kordestan																
17-Lorestan																
18-Markazi	۰/۰۰۵															
19-Mazandaran	۰/۰۰۰	۰/۰۰۵														
20-Semnan	۰/۰۰۵	۰	۰/۰۰۵													
21-Shiraz	۰/۰۰۵	۰	۰/۰۰۵	۰												
22-Sistan Balochestan	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳											
23-Yazad	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲										
24-Zanjan	۰/۰۰۷	۰/۰۰۲	۰/۰۰۷	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۵	۰/۰۰۳									
25-*A. m. caucasica* MN714160	۰/۰۱۳	۰/۰۱۹	۰/۰۱۳	۰/۰۱۹	۰/۰۱۹	۰/۰۱۵	۰/۰۱۷	۰/۰۱۷								
26-*A. m. carnica* MN250878	۰/۰۱۵	۰/۰۱۳	۰/۰۱۵	۰/۰۱۳	۰/۰۱۳	۰/۰۱۳	۰/۰۱۲	۰/۰۱۲	۰/۰۰۵							
27-*A. m. ligustica* KX908209	۰/۰۱۵	۰/۰۱۳	۰/۰۱۵	۰/۰۱۳	۰/۰۱۳	۰/۰۱۳	۰/۰۱۲	۰/۰۱۲	۰/۰۰۵	۰						
28-*A. m. mellifera* KJ396182	۰/۰۳۷	۰/۰۳۴	۰/۰۳۷	۰/۰۳۴	۰/۰۳۴	۰/۰۳۴	۰/۰۳۲	۰/۰۳۲	۰/۰۲۵	۰/۰۱۹	۰/۰۱۹					
29-*A. m. jemenitica* MN714161	۰/۰۴۲	۰/۰۳۵	۰/۰۴۲	۰/۰۳۵	۰/۰۳۵	۰/۰۴۰	۰/۰۳۸	۰/۰۳۳	۰/۰۳۱	۰/۰۲۴	۰/۰۲۴	۰/۰۲۳				
30-*A. m. lamarckii* KY464958	۰/۰۳۸	۰/۰۳۱	۰/۰۳۸	۰/۰۳۱	۰/۰۳۱	۰/۰۳۶	۰/۰۳۴	۰/۰۳۰	۰/۰۲۷	۰/۰۲۱	۰/۰۲۱	۰/۰۱۹	۰/۰۰۳			
31-*A. m. syriaca* KP163643	۰/۰۴۵	۰/۰۳۸	۰/۰۴۵	۰/۰۳۸	۰/۰۳۸	۰/۰۴۲	۰/۰۴۰	۰/۰۳۶	۰/۰۳۳	۰/۰۲۶	۰/۰۲۶	۰/۰۲۵	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵		
32-*A. m. capensis* KX870183	۰/۰۳۲	۰/۰۳۰	۰/۰۳۲	۰/۰۳۰	۰/۰۳۰	۰/۰۳۰	۰/۰۲۸	۰/۰۲۸	۰/۰۲۱	۰/۰۱۵	۰/۰۱۵	۰/۰۰۳	۰/۰۲۳	۰/۰۱۹	۰/۰۲۵	
33-*A. m. scutellata* MG552700	۰/۰۳۶	۰/۰۳۰	۰/۰۳۶	۰/۰۳۰	۰/۰۳۰	۰/۰۳۴	۰/۰۳۲	۰/۰۲۸	۰/۰۲۵	۰/۰۱۹	۰/۰۱۹	۰/۰۱۷	۰/۰۰۷	۰/۰۰۳	۰/۰۰۸	۰/۰۱۷

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-31]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.31.17.8]
[DOI: 10.52547/rap.12.31.157]

در تحقیق حاضر و در بین تمام توالی‌های نوکلئوتیدی (زنبورهای عسل ایرانی با زیرگونه‌های دیگر زنبورعسل)، مقدار نسبت جایگزینی نوکلئوتیدی هم‌جنس به ناهم‌جنس ND_1 بیشتر از ND_5 بود به‌طوری‌که در این مطالعه به اثبات رسید که ND_1 نسبت به ND_5 از کارایی بیشتری در حل روابط فیلوژنتیک و تفکیک زنبورهای عسل ایرانی از زیرگونه‌های تجاری زنبورعسل و حتی زیرگونه‌های دیگر زنبورعسل برخوردار بود. ولی ND_5 نتوانست تفکیک مناسبی را بین زنبورهای عسل تجاری و زنبورهای عسل ایرانی ایجاد نماید. به‌علاوه، روش پارسیمونی نیز به اثبات رساند که تعداد مکان‌های نوکلئوتید حاوی اطلاعات مفید فیلوژنتیک (۳۵) در ژن ND_1 بیشتر از ND_5 بود که این موضوع نشان‌دهنده مناسب‌تر بودن ND_1 در حل روابط فیلوژنتیک بود.

با توجه به اینکه هدف از این تحقیق ارزیابی تفکیک نمونه‌های زنبور عسل ایرانی از زیرگونه‌های تجاری زنبورعسل بود، باید تعداد مکان‌های متغیر نوکلئوتیدی (variable sites یا segragating sites) در درون جمعیت‌های زنبور عسل ایرانی نیز مورد توجه قرار گیرد. زیرا هر چقدر تفاوت‌های نوکلئوتیدی بین نمونه‌های یک جمعیت یا زیر گونه در ژن‌های مورد بررسی کمتر باشد، کارایی تفکیک این جمعیت‌ها یا زیر گونه از جمعیت‌ها و زیر گونه‌های دیگر افزایش می‌یابد (۲۶،۵۳،۵۴). با توجه به اینکه تعداد مکان‌های متغیر نوکلئوتیدی ژن‌های ND1 و ND5 در درون جمعیت‌های زنبورعسل ایرانی یکسان بود (S=۶)، بنابراین نسبت جایگزینی نوکلئوتیدی هم‌جنس به ناهم‌جنس در بین تمام توالی‌های نوکلئوتیدی (زنبورهای عسل ایرانی با زیرگونه‌های دیگر زنبور عسل) مورد بررسی قرار گرفت.

در تحقیق اخیر و با استفاده از PCR، ژن‌های ND_1 و ND_5 به‌ترتیب هشت و پنج هاپلوتیپ را در جمعیت‌های زنبور عسل ایرانی شناسایی کردند. Ozdil و همکاران (۳۷) یک هاپلوتیپ را در جمعیت‌های زنبور عسل ایرانی با استفاده از ژن ND_5 و روش PCR–RFLP پیدا کردند. به‌علاوه با استفاده از روش PCR–RFLP، سه و دو هاپلوتیپ در جمعیت‌های زنبور عسل ایرانی به‌ترتیب در ژن‌های 16S rRNA و COII شناسایی شدند (۴۰،۴۴). مطالعه Jabbari و همکاران (۲۱) با استفاده از ژن COII و روش PCR–RFLP نتوانستند زنبور عسل ایرانی را از زیر گونه *A. m. anatoliaca* تفکیک کنند. در صورتی‌که تحقیق حاضر با استفاده از ناحیه ژنی ND_1 و روش PCR زیرگونه *A. m. anatoliaca* را از زنبورهای عسل ایرانی متمایز کرد. Rahimi (۴۲) جمعیت‌های زنبور عسل ایرانی جنوب کشور را با استفاده از روش PCR–RFLP و ناحیه بین ژنی COI–COI مورد مقایسه قرار داد. نتایج او تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌های زنبور عسل ایرانی جنوب کشور را به اثبات نرساند. اما تحقیق حاضر با استفاده از ژن ND_1، تفاوت ژنتیکی بین جمعیت‌های زنبور عسل ایرانی جنوب کشور را به اثبات رساند. این موضوع نشان می‌دهد که روش PCR نسبت به روش PCR–RFLP، روش مؤثرتر و کارآمدتری در ارزیابی تغییرات ژنتیکی جمعیت‌های زنبور عسل ایرانی است.

نتایج مطالعه حاضر به اثبات رساند که نواحی ژنی ND_1 و ND_5 توانستند گروه‌های تکاملی A (زیر گونه‌های زنبورعسل آفریقایی) و Z-subgroup را از یک‌دیگر متمایز کنند. بنابراین یافته‌های این مطالعه، نتایج Alburaki و همکاران (۳) را در تمایز گروه‌های تکاملی A و Z-subgroup به اثبات رساندند. مطالعات دیگر نیز با استفاده از COII به‌همراه ناحیه بین ژنی، ND_4 و ND_6 توانستند این دو گروه تکاملی را از یک‌دیگر جدا کنند (۳۱،۵۲).

درخت‌های فیلوژنی حاصل از دو روش بیزی و پارسیمونی، توانایی بالاتر ناحیه ژنی ND1 را نسبت به ناحیه ژنی ND5 به اثبات رساندند به‌طوری‌که درخت‌های فیلوژنی حاصل از ژن ND1 توانستند زیر گونه‌های تجاری زنبور عسل را از نمونه‌های زنبور عسل ایرانی تفکیک کنند. همچنین با استفاده از روش پارسیمونی، تعداد بیشتری از مکان‌های نوکلئوتیدی حاوی اطلاعات مفید فیلوژنتیک در ND1 نسبت به ND5 شناسایی شد. تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA)، نتایج درخت‌های فیلوژنی ND1 حاصل از روش‌های بیزی و پارسیمونی و درخت فیلوژنی ND5 حاصل از روش بیزی را تأیید کرد. همچنین نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نشان داد که ND1 نسبت به ND5 تفکیک بهتری را در گروه‌های تکاملی زنبور عسل (Z-subgroup، A، M و C) ایجاد کرد.

منابع

1. Alajmi, R., R. Abdel-Gaberl and L. Alfozana. 2019. Molecular insights of mitochondrial 16S rDNA genes of the native honey bees subspecies *Apis mellifera carnica* and *Apis mellifera jementica* (Hymenoptera: Apidae) in Saudi Arabia. Genetics and Molecular Research, 18: 1-17.
2. Al-Buraki, M. and A. Al-Buraki. 2008. Morphometrical study on Syrian honeybee (*Apis mellifera syriaca*). Emir Journal Food Agriculture, 20(1): 89-93.
3. Alburaki, M., S. Moulin, H. Legout, A. Alburaki and L. Garnery. 2011. Mitochondrial structure of Eastern honey bee populations from Syria, Lebanon and Iraq. Apidologie, 42: 628-641.
4. Arias, M.C and W.S. Sheppard. 1996. Molecular phylogenetics of honey bee subspecies (*Apis mellifera* L.) inferred from mitochondrial DNA sequence. Molecular Phylogenetics and Evolution, 5: 557-566.
5. Arias, M.C., D. Silvestere, F.O. Francisco, R. Weinlich and W.S. Shepard. 2008. An oligonucleotide primer set for PCR amplification of the complete honey bee mitochondrial genome. Apidologie, 39: 475-480.
6. Bahador, Y., M. Mohammadabadi, A. Khezri, M. Asadi and L. Medhati. 2016. Study of genetic diversity in honey bee populations in Kerman province using ISSR markers. Research on Animal Production, 7(13): 186-192 (In Persian).

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-31]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.31.17.8]
[DOI: 10.52547/rap.12.31.157]

7. Bouga, M., P.C. Harizanis, G. Kilias and S. Alahiotis. 2005. Genetic divergence and phylogenetic relationships of honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) populations from Greece and Cyprus using PCR - RFLP analysis of three mtDNA segments. Apidologie, 36: 335-344.
8. Bouga, M., C. Alaux, M. Bienkowska, R. Büchler, N. Carreck, E. Cauia, R. Chlebo, B. Dahle, R. Dall'Olio, P. De la Rua, A. Gregorc, E. Ivanova, A. Kence, M. Kence, N. Kezic, H. Kiprijanovska, P. Kozmus, P. Kryger, Y. Conte, M. Lodesani, A.M. Murilhas, A. Siceanu, G. Soland, A. Uzunov and J. Wilde. 2011. A review of methods for discrimination of honey bee populations as applied to European beekeeping. Journal of Apicultural Research, 50: 51-84.
9. Charistos, L., F. Hatjina, M. Bouga, M.D. Mladenovic and A. Maistros. 2014. Morphological discrimination of Greek honey bee populations based on geometric morphometrics analysis of wing shape. Journal of Apicultural Science, 58: 75-84
10. Chavez-Galerza, J., L. Garnery, D. Henriques, C.J. Neves, W. Loucif-Ayad, S. Jonhston and M. Alice-Pinto. 2017. Mitochondrial DNA variation of *Apis mellifera* iberiensis: further insights from a large-scale study using sequence data of the tRNAleu-cox2 intergenic region. Apidologie, 48: 533-544.
11. Chen, C., Z. Liu, Q. Pan, X. Chen, H. Wang, H. Guo, S. Liu, H. Lu, S. Tian, R. Li and W. Shi. 2016. Genomic analyses reveal demographic history and temperate adaptation of the newly discovered honey bee subspecies *Apis mellifera sinisxinyuan* n. spp. Molecular Biology and Evolution, 33: 1337-1348.
12. De la Rua, P., Y.J. Ruiz, J. Galián and J. Serrano. 2004. Evaluation of the biodiversity of honey bee (*Apis mellifera*) populations from eastern Spain. Journal of Apicultural Research, 43: 162-166.
13. Dwivedi, B. and S.R. Gadagkar. 2009. The impact of sequence parameter values on phylogenetic accuracy. Biology and Medicine, 1(3): 50-62.
14. Ebadi, R. and A. Ahmadi. 2016. Honybee culture. Honybee culture. Arkan Danesh press, Tehran, Iran, 616pp (In Persian).
15. Estoup, A., M. Solignac, M. Harry and J.M. Cornuet. 1993. Characterization of (GT)-n and (CT)-n microsatellites in two insect species: *Apis mellifera* and *Bombus terrestris*. Nucleic Acids Research, 21: 1427-1431.
16. Evans, D.J., R.S. Schwarz, Y.P. Chen, G. Budge, R.S. Cornman, P. Delarua, J. Miranda, S. Foret, L. Foster, L. Gauthier, E. Genersch, S. Gisder, A. Jarosch, R. Kocharski, D. Lopez, D.M. Lun, R. Moritz, R. Maleszka, I. Munoz and M.A. Pinto. 2013. Standard methods for molecular research in *Apis mellifera*. Journal of Apicultural Research, 52: 8-15.
17. Ferreira, K.M., O.L. Silva, M.C. Arias and M.A.D. Lama. 2009. Cytochrome-b variation in *Apis mellifera* samples and its association with COI–COII patterns. Genetica, 135: 149-155.
18. Frankham, R., J.D. Ballou, M.R. Dudash, M.D. Eldridge, C.B. Fenster, R.C. Lacy and O.A. Ryder. 2012. Implications of different species concepts for conserving biodiversity. Biological Conservation, 153: 25-31.
19. Garnery, L., M. Solignac, G. Celebrano and J.M. Cornuet. 1993. A simple test using restricted PCR-amplified mitochondrial DNA to study the genetic structures of *Apis mellifera* L. Experientia, 49: 1016-1021.
20. Hammer Ø. and D.A.T. Harper. 2006. Paleontological data analysis. Wiley-Blackwell, Oxford. 368pp.
21. Jabbari, A., H. Farhoud and M. Kence. 2005. Morphometric and MtDNA analysis in honeybee populations (*Apis melifera* L.) of north and north-west Iran. In: 1th Balkan scientific conference of biology, Plovdiv, Bulgaria.
22. Jamshidi, M., A. Nejati, R. Ebadi and G.H. Tahmasebi. 2008. Estimating phenotypic correlation between several traits of honeybee population in Tehran, Markazi, Ghazvin and Isfahan provinces of Iran. Animal science Journal (Pajouhesh & Sazandegi), 79: 36-44 (In Persian).
23. Kandemir, I. and A. Kence. 1995. Allozyme variation in a central Anatolian honey bee (*Apis mellifera* L.) population. Apidologie, 26: 503-510.
24. Kandemir, I., A. Ozkan and M. Moradi. 2004. A scientific note on allozyme variability in Persian honey bees (*Apis mellifera meda*) from the Elburz mountains in Iran. Apidologie, 35: 521-522.
25. Kence, M., F. Jabbari Farhoud and R. Ivgin Tunca. 2009. Morphometric and genetic variability of honey bee (*Apis mellifera* L.) populations from Northern Iran. Journal of Apicultural Research, 48: 247-255.
26. Meier, R., K. Shiyang, G. Vaidya and P. Ng. 2006. DNA barcoding and taxonomy in Diptera: A tale of high intraspecific variability and low identification success. Systematic Biology, 5: 715-728.
27. Meixner, M.D., W.S. Sheppard, A. Dietz and R. Krell. 1994. Morphological and allozyme variability in honey bees from Kenya. Apidologie, 25: 188-202.
28. Meixner, M.D., M.C. Arias and W.S. Sheppard. 2000. Mitochondrial DNA polymorphism in honey bee subspecies from Kenya. Apidologie, 31: 181-190.
29. Meixner, M.D., M.A. Leta, N. Koeniger and S. Fuchs. 2011. The honey bees of Ethiopia represent a new subspecies of *Apis mellifera simensis*. Apidologie, 42: 425-437.
30. Meixner, M.D., M.A. Pinto, M. Bouga, P. Kryger, E. Ivanva and S. Fuchs. 2013. Standard methods for characterising subspecies and ecotypes of *Apis mellifera*. Journal of Apicultural Research, 52: 1-28.
31. Modaber, M., J. Nazemi-Rafie and H. Rajabi-Maham. 2109. Population genetic structure of native Iranian population of *Apis mellifera meda* based on intergenic region and COX2 gene of mtDNA. Insects Sociaux, 66: 413-424.
32. Mohammadi P., J. Nazemi-Rafie and J. Rostamzadeh. 2018. Evaluation of phylogenetic characteristics of Iranian honey bee (*Apis mellifera meda*) populations based on mitochondrial ND2 gene. Research on Animal Production, 9: 93-104 (In Persian).

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-31]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.31.17.8]
[DOI: 10.52547/rap.12.31.157]

33. Moritz R.F.A., C.F. Hawkins, R.H. Crozier and A.G. Mackinley. 1986. A mitochondrial DNA polymorphism in honey bees (*Apis mellifera* L.). Cellular and Molecular Life Sciences, 42: 322-324.
34. Muñoz, I., R. Dall'Olio, M. Lodesani and P. De La Rua. 2009. Population genetic structure of coastal Croatian honey bees (*Apis mellifera carnica*). Apidologie, 40: 617-626.
35. Nazemi-Rafie, J. 2010. Tree, phylogenetics & models of molecular evolution. University of Kurdistan press, Kurdistan, Iran. 279 pp (In Persian).
36. Oleksa, A. and A. Tofilski. 2015. Wing geometric morphometrics and microsatellite analysis provide similar discrimination of honey bee subspecies. Apidologie, 46: 49-60.
37. Ozdil, F., I. Aytekin, F. Ilhan and S. Boztepe. 2012. Genetic variation in Turkish honey bees *Apis mellifera anatoliaca*, *A. m. caucasica*, *A. m. meda* (Hymenoptera: Apidae) inferred from RFLP analysis of three mtDNA regions (16S rDNA-COI-ND5). European Journal of Entomology, 109: 161-167.
38. Ozdil, F. and F. Ilhan. 2014. Diversity of *Apis mellifera* subspecies from Turkey revealed by sequence analysis of mitochondrial 16s rDNA region. Biochemical Genetics, 50: 748-760.
39. Perugini, M., M. Manera, L. Grotta, M.C. Abete, R. Tarasco and M. Amorena. 2011. Heavy metal (Hg, Cr, Pb) contamination in urban areas and wildlife reserves: honeybees as bioindicators. Biological Trace Element Research, 140(2): 170-176.
40. Pish Jang, J., M. Yılız, B. Fakhri and A. Nobakht. 2011. A Study of the diversity in COI-COII intergenic region of mitochondrial DNA in different Persian honey bee (*A. mellifera meda*). Journal of Basic and Applied Scientific Research, 1: 215-220.
41. Posada, D. 2008. JModeltest: Phylogenetic model averaging. Molecular Phylogenetics and Evolution, 25: 1253-1256.
42. Rahimi, A. 2015. Study of the genetic diversity of Iranian honey bee (*Apis mellifera meda* Skorikow, 1829) populations using the mtDNACOI–COII intergenic region. Biologija, 61: 54-59.
43. Rahimi, A., A. Mirahmadi, D. Kahrizi, L. Zarei and S. Jamali. 2016. Genetic diversity of Iranian honey bee (*Apis mellifera meda* Skorikow, 1829) populations based on ISSR markers. Cellular and Molecular Biology, 62: 52-58.
44. Rahimi, A., A. Mirmoayedi, D. Kahrizi, L. Zarei and S. Jamali. 2018. Genetic variation in Iranian honey bees, *Apis mellifera meda* Skorikow, 1829, (Hymenoptera: Apidae) inferred from PCR-RFLP analysis of two mtDNA gene segments (COI and 16S rDNA). Sociobiology, 65: 482-490.
45. Rose, R., O. Golosova, D. Sukhomlinov, A. Tiunov and M. Prosperi. 2019. Flexible design of multiple metagenomics classification pipelines with UGENE. Bioinformatics, 35: 1963-1965.
46. Ruttner, F. 1988. Biogeography and taxonomy of honey bees. Springer, Berlin, Heildelberg.
47. Sahebzadeh, N., E. Rakhshani and N. Tajabadi. 2017. Genetic polymorphism of Iranian honey bee populations of *Apis mellifera meda* using microsatellite markers. Dissertation, Univrsity of zabol, Iran.
48. Sheppard, W.S., T.E. Rinderer, J.A. Mazzoli, J.A. Sletzer and H. Shimanuki. 1991. Gene flow between African- and European- derived honey bee populations in Argentina. Nature, 349: 782-784.
49. Su, S., S. Albert, S. Chen and B. Zhong. 2005. Molecular cloning and analysis of four cDNAs from the heads of *Apis cerana cerana* nurse honeybees coding for major royal jelly proteins. Apidologie, 36(3): 389-401.
50. Tamura, K., G. Stecher, D. Peterson, A. Filipski and S. Kumar. 2013. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. Molecular Biology and Evolution, 30: 2725-2729.
51. Techer, M.A., J. Clemencet, S. Simiand, H.A. Preeaduth, H. Abou Azali, B. Reynaud and D. Hélène. 2017. Large-scale mitochondrial DNA analysis of native honey bee *Apis mellifera* populations reveals a new African subgroup private to the South West Indian Ocean islands. BMC Genetics, 18: 1-21.
52. Veisi, H., J. Nazemi‐Rafie, A. Azizi and H. Rajabi‐Maham. 2020. Genetic characteristics of the Iranian honey bee, *Apis mellifera meda*, based on mitochondrial genes of ND4, ND4L and ND6 and their internal transcribed spacers. Insectes Sociaux, 67: 439-448.
53. Yang, L., Z. Tan, D. Wang, L. Xue, M. Guan, T. Huang1 and R. Li. 2014. Species identification through mitochondrial rRNA genetic analysis. Sientific Methods, 4: 1-11.
54. Zardoya, R. and A. Meyer. 1996. Phylogenetic performance of mitochondrial protein-coding genes in resolving relationships among vertebrates. Molecular Biology and Evolution, 13: 933-942.
55. Zayed, A. 2009. Bee genetics and conservation. Apidologie, 40(3): 237-262.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-31]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.31.17.8]
[DOI: 10.52547/rap.12.31.157]

Differentiation of Iranian Honeybees (*Apis mellifera meda*) from Commercial Honeybee Subspecies using ND1 and ND5 Genes

Himan Soltani[2], Javad Nazemi-Rafie[2] and Behrouz Harighi[3]

1- Graduated M.Sc. Student, University of Kurdistan
2- Assistant Professor, University of Kurdistan (Corresponding author: j.nazemi@uok.ac.ir)
3- Associate Professor, University of Kurdistan
Received: 5 September, 2019 Accepted: 9 January, 2020

Abstract

The samples of honeybee workers were collected from 26 areas from Iran. The aim of this research was to evaluate the ND1 (630 bp) and ND5 (630 bp) genes for differentiation of Iranian honeybees (*A. m. meda*) from commercial subspecies (*A. m. carnica*, *A. m. ligustica*, *A. m. caucasica* and *A. m. mellifera*). The ND1 and ND5 squences of Iranian honeybees and other honeybee subspecies were evaluated using bayesian and parsiminy methods. ND1 and ND5 showed eight and five haplotypes in populations of Iranian honeybees. Using bayesian method, four clades were identified in Iranian honeybees of phylogenetic tree derived from ND1 gene. The first to fourth clades included haplotype 1 (Golestan, Southern Khorasan, Kordestan, Lorestan and Mazandaran), haplotype 2 (Siatan Balochestan), haplotype 3 (Yazd and Eilam), haplotype 4 (Ardabil), haplotype 5 (Kerman), haplotype 6 (Zanjan), haplotype 7 (Kermanshah) and haplotype 8 (Boshehr, Western Azarbayejan, Charmahal Bakhtiari, Qazvin, Qom, Hamadan, Hormozgan, Razavi Khorasan, Northern Khorasan, Kohkeloye Boyerahmad, Khozestan, Markazi, Semnan and Fars). The phylogenetic trees drived from bayesian and parsimony methods demonstrated more ability of ND1 gene in comparison with ND5 gene; ND1 gene differntiated Iranian honeybees from commercial honeybee subspecies. Furthermore, using parsimony method, more informative sites were identified in ND1 in comparison with ND5 gene. Principle component analysis (PCA) confirmend phylogenetic trees of ND1 drived from bayesian and parsimny methods and phylogenetic tree of ND5 drived from bayesian method. Moreover, PCA demonstrated more efficiency of ND1 in differentiation of evolutionary lineages (Z-subgroup, A, C and M) in comparison with ND5 gene.

Keywords: Iranian honeybees, Mitochondrial gene, ND1, ND5, Phylogeny

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-31]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.31.17.8]
[DOI: 10.52547/rap.12.31.157]