Artykuł przeglądowy *Review*

Tradycyjne i nowoczesne metody wykorzystywane w filogenezie i ochronie pszczół środkowoeuropejskich w Polsce

BEATA MADRAS-MAJEWSKA, ŁUCJA SKONIECZNA

Pracownia Pszczelnictwa, Wydział Nauk o Zwierzętach, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 166, 02-787 Warszawa

Otrzymano 07.05.2018 *Zaakceptowano 27.07.2018*

Madras-Majewska B., Skonieczna Ł.

Traditional and modern methods used in phylogenesis and protection of native middle-European bee in Poland

Summary

In Poland, as in the whole world, there is a growing risk of extinction of the honeybee, especially the subspecies of the native middle-European bee. The main factors for the disappearance of native bee lines are environmental degradation, diseases and pathogens, as well as the introduction of imported queen bees of other breeds into domestic breeding. In this situation, it is particularly important to protect the genetic resources of native bees, which currently live in small areas covered by protection programs. The aim of this work is to review the possibilities offered by morphological and genetic examinations in the conservation breeding of native honey bee lines. It was found that the implementation of programs for the protection of native middle-European bees should be continued because of the growing risk of losing or diluting the valuable gene pool of native bees. Only the combination of phenotypic analysis and analysis based on DNA markers can effectively contribute to the protection of the native middle-European bee.

Keywords: native middle-European bee, morphological methods, DNA markers, bee protection programs

Pszczoła miodna pełniąc funkcje zapylacza, stanowi niezwykle ważny element ekosystemu, zapewniając przetrwanie wielu gatunkom roślin i zwierząt. Wskutek niekorzystnych zmian w ekosystemach spowodowanych działalnością człowieka dochodzi do degradacji środowiska, zubożenia składu gatunkowego fauny i flory oraz wydłużania się listy gatunków ginących lub zagrożonych wyginięciem. Jednym z cennych gatunków zagrożonych wyginięciem jest pszczoła miodna *Apis mellifera* L.

Głównymi czynnikami mającymi wpływ na tę sytuację są przede wszystkim: ekspansywna eksploatacja środowiska przyrodniczego, zubożenie gatunków roślin miododajnych, monokultury, pasożyty i patogeny, a także izolacja genetyczna, doprowadzająca w konsekwencji do wystąpienia inbredu (15, 94). Szczególnie zagrożonym podgatunkiem są pszczoły środkowoeuropejskie *Apis mellifera mellifera*. Istotnym czynnikiem, oprócz wymienionych, powodującym drastyczny spadek liczebności populacji rodzimej pszczoły środkowoeuropejskiej było masowe wprowadzanie do pasiek matek innych podgatunków pszczół. Pszczelarze chcąc poprawić rentowność swoich pasiek poprzez zwiększenie zbiorów miodu, zastępowali matki *Apis m. mellifera* matkami kraińskimi *Apis m. carnica* czy też kaukaskimi *Apis m. caucasica* charakteryzującymi się istotnie lepszą wartością użytkową. Na skutek takich działań pszczoły środkowoeuropejskie zostały niemal całkowicie wyparte z rejonów ich naturalnego występowania. Obecnie bytują na niewielkich obszarach objętych ochroną, które znajdują się między innymi na terenie Danii (wyspa Læsø), Norwegii czy Polski.

W Polsce w celu zachowania tego cennego podgatunku pszczół rodzimych, stosunkowo wcześnie podjęto próby ich ochrony. Już w latach 70. i 80. XX w. utworzono rejony hodowli zachowawczej na terenie Puszczy Augustowskiej i Puszczy Kampinoskiej. Na tych terenach obowiązywało i obowiązuje nadal utrzymywanie tylko określonych populacji pszczół środkowoeuropejskich, nazwanych, odpowiednio, linią M Augustowska i M Kampinoska.

Ochrona pszczół środkowoeuropejskich w Polsce

W Europie rośnie zainteresowanie pszczołą środkowoeuropejską zwłaszcza na terenach jej pierwotnie naturalnego występowania. *Apis m. mellifera* jest rasą wyjątkowo odporną na zmienne warunki klimatyczne i dostosowaną do ciężkich warunków zimowli. W krzyżowaniu towarowym pszczoły środkowoeuropejskie poprawiają u mieszańców żywotność, elastyczność środowiskową i zwiększają ich produkcyjność. Z ostatnich badań akcji COLOSS (2014-2016) wynika, że pszczoły lokalnych populacji np. *Apis m. mellifera* są najbardziej przystosowane do warunków środowiskowych i lepiej radzą sobie z chorobami, pasożytami oraz innymi patogenami (17, 44, 54, 90).

Stwierdzono związek między przeżywalnością pszczół (w tym pszczół środkowoeuropejskich) a środowiskiem ich naturalnego występowania. Wykazano, że rodziny pszczele z matkami miejscowego pochodzenia żyją o 83 dni dłużej w porównaniu z nielokalnymi ($p < 0,001$) (17). Ponadto na podstawie analizy GLM wykazano wysoko istotną interakcję między genotypem a pochodzeniem pszczół (44). Stwierdzono, że genotypy miały inną zdolność zimowania w zależności od tego, czy funkcjonowały w ich lokalnym środowisku, czy na nowym terenie. Miejscowe pszczoły nie tylko lepiej zimowały, ale również gromadziły większe ilości miodu niż pszczoły nielokalne, które wyniosły odpowiednio 24,5 kg i 22,7 kg (44). Na podstawie wyników kolejnych badań (90) wykazano, że na rojliwość pszczół np. środkowoeuropejskich wysoko istotnie wpływały następujące czynniki: rok, lokalizacja i genotyp. Stwierdzono również, że oszacowana średnia wartość zachowania obronnego (żądliwości) w lokalnych populacjach *Apis m. mellifera* z Polski (MelP) wynosiła $2,45 \pm 0,21$ i była wyższa w porównaniu z innymi populacjami np. pszczół pochodzących z Chalkidik $1,94 \pm 0,12$. Poza tym wskazano wysoko istotny wpływ genotypów miejscowych i nielokalnych rodzin pszczelich na ich zachowania obronne. Genotypy oceniane w miejscu pochodzenia wyrażały niższą wartość (wyższy wynik) ocenianej cechy $3,20 \pm 0,06$ w porównaniu do genotypów nielokalnych $2,98 \pm 0,05$ (90). Kolejne badania (54) wyraźnie wykazują wpływ hybrydyzacji na zmniejszenie łagodności pszczół. Lokalne czyste pszczoły np. *Apis m. mellifera* są więc mniej agresywne w swoim naturalnym środowisku. Wpływ genotypów na lokalizację odgrywa dominującą rolę w występowaniu chorób pszczół np. wirusa deformacji skrzydeł towarzyszącego inwazji warrozy. Pasożyty oraz inne patogeny stwierdzono zarówno u pszczół miejscowych, jak i nielokalnych. Średni czas przeżywalności pszczół miejscowych był jednak znacznie dłuższy niż w przypadku pszczół nielokalnych. Lokalne pszczoły mogą dysponować większymi zasobami, aby powstrzymać pasożyty i patogeny dzięki ich lepszemu przystosowaniu do lokalnego środowiska, klimatu i roślinności (54).

Podsumowując badania akcji COLOSS stwierdzono, że lokalne pszczoły żyły najdłużej, a w wielu przypadkach otrzymywały również najlepsze wyniki pod względem łagodności i wydajności miodu. Pszczoły miejscowe wykazały się również większą odpornością na pasożyty i inne patogeny. W związku z powyższym należy poświęcić większą uwagę zachowaniu różnorodnych zasobów genetycznych pszczół miodnych np. pszczół środkowoeuropejskich w całej Europie. Jednym ze sposobów osiągnięcia tego celu może być ustanowienie obszarów chronionych zagrożonych populacji (17, 44, 54, 90).

Ochrona pszczół środkowoeuropejskich jest realizowana głównie na obszarach, na których pszczoły te ewoluowały. W Europie prowadzone są programy ochrony w różny sposób (67). Jednym z nich jest utrzymywanie lokalnych populacji na wyspach, zapewniających izolację przestrzenną, np. na La Palma (Wyspach Kanaryjskich), Azorach, Maderze, duńskiej wyspie Læsøe lub francuskiej Ouessant (http://abeillenoireouessant.fr/index.php). Innym sposobem jest tworzenie lądowych obszarów chronionych np. w Skandynawii, Austrii czy Szwajcarii (31). We Francji i częściowo w Anglii preferowane jest prowadzenie programów w oparciu o zamknięte stada zachowawcze. Niezależnie od sposobu prowadzenia ochrony, celem wszystkich programów jest utrzymanie cech charakterystycznych dla *Apis m. mellifera* w możliwie niezmienionym stanie, przy zachowaniu jak największej zmienności genetycznej.

Polska była pierwszym krajem, gdzie rozpoczęto działania na rzecz ochrony *Apis m. mellifera*. Zebrane przez ponad 40 lat doświadczenia pozwalają na stwierdzenie zagrożeń i prowadzenie programów ochrony na zadowalającym poziomie. Pszczoły środkowoeuropejskie zasiedlały większą część kraju jeszcze do 1939 r. Drastyczny spadek pogłowia pszczoły miodnej, w tym pszczoły środkowoeuropejskiej, w Polsce nastąpił na skutek działań wojennych. Stan rodzin pszczelich zmniejszył się przeciętnie o ok. 50%. W 1939 r. było ich 1 mln 450 tys., a w 1945 r. ok. 750 tys. (12). Straty w poszczególnych rejonach kraju wynosiły 60-90%, np. w województwie zachodniopomorskim z szacowanej liczby przed wojną 100 tys. rodzin zostało ok. 10 tys. (49). Konieczność odbudowy pogłowia pszczół w Polsce spowodowało zainteresowanie podgatunkami pszczół plennych i wysoko wydajnych. W latach 60. i 70. ubiegłego wieku chętnie wprowadzano do pasiek matki kaukaskie i kraińskie ze względu na uzyskiwanie wysokich wydajności miodu od mieszańców. W tym okresie prowadzono badania nad przydatnością mieszańców pszczół krajowych z rasami obcymi w różnych rejonach Polski, wykazując wyższość mieszańców (efekt heterozji) nad pszczołami krajowymi (9). Efekt heterozji występuje tylko w pierwszym pokoleniu i nie jest dziedziczony. Przy braku dostępu do pierwotnego materiału nie ma możliwości uzyskania tego efektu heterozji. Stwierdzono więc konieczność

ochrony pszczół krajowych w rezerwatach zabezpieczających przed introdukcją obcych genów (41).

Pierwszym krokiem do sukcesu było powołanie w 1975 r. Centralnej Stacji Hodowli Zwierząt (CSHZ) i jej terenowych oddziałów tzw. Okręgowych Stacji, jako instytucji nadzorujących pasieki hodowlane. W tym samym czasie zostało wydane Zarządzenie Ministra Rolnictwa w sprawie uznawania pasiek za zarodowe i reprodukcyjne. Następnie, na podstawie Rozporządzenia Rady Ministrów z dn. 10 lipca 1975 r., Dz. U. Nr 26, poz. 138, pszczoły uznano za zwierzęta gospodarcze. Powyższe stanowiło podstawę do uwzględnienia tych pożytecznych owadów w programach doskonalenia genetycznego pszczół oraz ochrony zasobów genetycznych pszczół z opracowanym systemem dotowania (http://www.bioroznorodnosc.izoo.krakow.pl/pszczoly/dokumenty). Z kolei pierwszy program ochrony zasobów genetycznych dotyczący stad zachowawczych pszczół środkowoeuropejskich został opracowany przez dr. A. Zawilskiego (informacja ustna, Łucja Skonieczna). Pierwszą inicjatywę utworzenia zamkniętego rejonu hodowli pszczół linii M Kampinoska na terenie Kampinoskiego Parku Narodowego podjął Wojewódzki Związek Pszczelarzy w Warszawie w 1968 r. Natomiast w 1980 r. prezydent Warszawy wydał zarządzenie w sprawie utworzenia zamkniętego rejonu hodowli pszczoły linii M Kampinoska (Zarządzenie Nr 29 z dnia 19 lipca 1980 r.). Rok później CHSZ powołała zespół programowy d.s. zamkniętego rejonu hodowli pszczoły linii M Kampinoska, którego kierownikiem został Michał Gromisz (61). Zespół opracował między innymi ogólne założenia organizacyjne hodowli zachowawczej, metody pracy hodowlanej, organizację wymiany matek oraz czynności badawczo-kontrolne pszczoły linii M Kampinoska (40). W skład wymienionego zespołu wchodził również Jerzy Tombacher, który opisał cechy pszczoły linii M Kampinoska, uwzględniając wielkość, kształt, ubarwienie oraz zachowanie pszczół. Jak podaje Tombacher (87), stosunek ilościowy pogłowia poszukiwanej „czystej krwi" do liczby mieszańców w 1983 r. wynosił 15%. Stwierdzono więc konieczność ochrony pszczół „czystej krwi" (87). Zespół programowy współpracował z Centralną Stacją Hodowli Zwierząt, która od 1 stycznia 2001 r. została przekształcona w Krajowe Centrum Hodowli Zwierząt w Warszawie (88, 89).

Obecnie realizację uaktualnionych programów ochrony zasobów genetycznych pszczół środkowoeuropejskich (czterech linii: M Augustowska, M Kampinoska, M Północna i M Asta) nadzoruje Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi za pośrednictwem Instytutu Zootechniki PIB w Warszawie i Krajowego Centrum Hodowli Zwierząt w Warszawie. Instytut Zootechniki sprawdza zgodność działań podmiotów bezpośrednio realizujących programy doskonalenia genetycznego pszczół oraz programy ochrony zasobów genetycznych pszczół środkowoeuropejskich linii M Augustowska, M Kampinoska, M Asta, M Północna. Krajowe Centrum prowadzi ocenę matek biorących udział w wymienionych programach, dokonuje wpisów do ksiąg hodowlanych dla poszczególnych linii oraz nadzoruje system dotacji częściowego zwrotu kosztów poniesionych przez podmioty realizujące zadania.

Jednym z bezpośrednich wykonawców programów doskonalenia genetycznego pszczół oraz ochrony zasobów genetycznych pszczół jest pasieka zarodowa w Kocierzowych, należąca do Mazowieckiego Centrum Hodowli i Rozrodu Zwierząt Sp. z o.o. w Łowiczu. W wymienionej pasiece utrzymywana jest, od 1977 r. do chwili obecnej, linia chroniona M Asta.

Kolejny podmiot realizujący programy ochrony zasobów genetycznych pszczół środkowoeuropejskich, to powołana 1 stycznia 2014 r. Pasieka Hodowlana KRIR Sp. z o. o. z siedzibą w Parzniewie wraz z przynależną do niej Pasieką Hodowlaną w Olecku. Obydwie pasieki od lat 80. do 2014 r. należały do Stacji Hodowli i Unasienniania Zwierząt Sp. z o. o. w Bydgoszczy. Pasieka w Olecku utrzymuje dwie linie chronione – M Augustowska i M Północna, natomiast pasieka w Parzniewie – linię M Kampinoska. Dodatkowo od 2015 r. Pracownia Hodowli Pszczół, Zakładu Pszczelnictwa w Puławach (Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach) prowadzi analizę bioróżnorodności i zmienności wewnątrz populacji pszczół środkowoeuropejskich. Analiza realizowana jest na podstawie cech fenotypowych i behawioralnych oraz ich cech użytkowych. Oceniane są również zdolności przystosowawcze i rozwojowe pszczół linii hodowlanych M Augustowska, M Północna i M Kampinoska i M Asta do warunków środowiskowych, z uwzględnieniem w szczególności cech rozwoju, plenności, zimotrwałości i odporności.

Zgodnie z powyższym obecnie ochroną zasobów genetycznych pszczół objęte są cztery linie rasy środkowoeuropejskiej: M Augustowska, M Kampinoska, M Północna i M Asta. Realizacja programów ochrony zasobów genetycznych dla poszczególnych linii *Apis m. mellifera* odbywa się na zasadzie współpracy pomiędzy pasiekami wiodącymi i współpracującymi. Dla dwóch z nich: M Augustowska i M Kampinoska zostały utworzone rejony hodowli zachowawczej na terenie Puszczy Augustowskiej i Puszczy Kampinoskiej (47, 48, 62, 77, 78).

Zamknięty rejon hodowli pszczół linii M Augustowska utworzono w 1976 r., a cztery lata później linii M Kampinoska (42). Pomimo że pozostałe linie pszczół środkowoeuropejskich M Północna i M Asta nie mają określonych administracyjnie obszarów ochrony zasobów genetycznych, to przy realizacji tych programów obowiązuje podobny schemat organizacyjny, jak dla linii z określonym rejonem zachowawczym (47). Powstałe zamknięte rejony hodowli zachowawczej pszczół środkowoeuropejskich linii M Augustowska i M Kampinoska stanowią pierwotne siedliska po-

pulacji tam chronionych. Puszcza Augustowska, na terenie której znajduje się rejon zachowawczy pszczół linii M Augustowska, przypomina okrąg o średnicy ok. 30 km. Ukształtowanie terenu i kompleksy leśne pozwoliły na wyodrębnienie strefy centralnej rozciągającej się na obszarze o promieniu 10 km od miejscowości Płaska. W strefie tej oprócz sztucznego unasienniania stosowanego w stadzie wiodącym dopuszczone jest naturalne unasiennianie. Rodziny utrzymywane w na tym obszarze są bankiem genów dla pasieki wiodącej. W promieniu 10 km od granicy strefy centralnej rozciąga się strefa izolacyjna, której zadaniem jest zabezpieczenie rejonu przed napływem obcych genów. Cel ten jest realizowany przez wprowadzanie jak największej liczby matek pochodzących ze strefy centralnej oraz przeznaczonych do tej strefy przez stado wiodące. Działania te powodują uzyskanie jak największej liczby trutni zabezpieczających przed kojarzeniem matek z obcymi trutniami. Pomiędzy pasiekami znajdującymi się w obrębie strefy oraz pasiekami współpracującymi a stadem wiodącym istnieje dwukierunkowy przepływ materiału hodowlanego. Do stada wiodącego trafiają matki spełniające wymagania dotyczące wzorca linii, a stado wiodące zasila stada współpracujące zgodnie z przyjętym harmonogramem (48, 62). Podobnie realizowane są zadania ochrony w rejonie utworzonym na terenie Kampinoskiego Parku Narodowego. Różnica polega na tym, że w tym rejonie, rozciągającym się 40 km ze wschodu na zachód i 20 km z północy na południe, ze względu na ukształtowanie terenu istnieje tylko jedna strefa ze statutem strefy izolacyjnej. Wyszukiwanie materiału „dzikiego" jest tutaj znacznie utrudnione, a rejon ten jest bardziej narażony na wprowadzenie genów obcych ras (47, 48, 62, 65, 77). Linię M Asta natomiast utrzymuje się w systemie stada wiodącego i stad współpracujących na terenie powiatów radomskiego i piotrkowskiego. Ponadto na terenie wymienionych powiatów oraz częstochowskim i wieluńskim pszczelarze posiadają pasieki stanowiące populację naturalną bez uznania za rejon zamknięty, która stanowi także rezerwuar genów pszczół tej linii (62). Podobnie jak we wszystkich programach doskonalenia genetycznego pszczół oraz programach ochrony zasobów genetycznych *Apis m. mellifera*, w ochronie pszczół środkowoeuropejskich linii M Północna, następuje dwukierunkowa wymiana materiału hodowlanego pomiędzy stadem wiodącym a pasiekami współpracującymi. Stado wiodące tej linii utrzymywane jest w Olecku, a pasieki współpracujące w pobliżu Olecka, Kętrzyna i Lidzbarka Warmińskiego. Linia ta jest najbardziej narażona na negatywne skutki wzrostu inbredu ze wszystkich chronionych populacji, ze względu na brak naturalnej populacji, z której można by było korzystać w przypadku zawężenia zmienności genetycznej (62, 65, 78).

Cele wyznaczone w programach ochrony zasobów genetycznych poszczególnych linii są podobne, różnią się natomiast ze względu na funkcjonowanie lub brak wyznaczonych administracyjnie zamkniętych rejonów hodowli zachowawczej oraz zachowanie cech specyficznych dla danej linii.

– dla pszczół linii M Augustowska i M Kampinoska:

1) zachowanie odpowiedniej liczebności populacji miejscowej w rejonach zachowawczych;

2) ponowne wprowadzenie matek ze stad zachowawczych do rejonów ochrony;

3) utrzymanie odpowiedniej liczebności stad zachowawczych oraz zachowanie i utrwalenie cech typowych dla populacji;

4) doskonalenie cech użytkowych, takich jak miodność, nierojność, łagodność przy jednoczesnym zachowaniu fenotypowych i biologicznych cech charakterystycznych dla danej populacji chronionej;

– dla pszczół linii M Północna i M Asta – cele wyznaczają wymienione punkty 3 i 4.

Liczebności rodzin pszczelich zakwalifikowanych do programów ochrony w latach 1999-2013, których schematy organizacyjne przedstawiono wyżej, zamieszczono na ryc. 6.

Jednym z wymogów realizowania programów ochroną, jest zachowanie cech fenotypowych określonych we wzorcach każdej linii. Istotnym wskaźnikiem morfometrycznym, ze względu na jego przydatność jako cechy taksonomicznej, jest indeks kubitalny (22). Rostecki (65) podał wartości tego parametru dla linii chronionych w Polsce (tab. 4). Porównanie pszczół linii M Augustowska i M Kampinoska, bazujących na zamkniętych rejonach zachowawczych z pszczołami z linii M Północna, które takiej rezerwy nie posiadają, jest interesujące ze względu na dobór par rodzicielskich. Jest on ściśle kontrolowany i prowadzony w oparciu o sztuczne unasiennianie matek pszczelich, natomiast w rejonach ochronnych część matek unasiennia się naturalnie, a część sztucznie. Ze względu na możliwość wprowadzenia obcych genów do populacji chronionych, (zalatywanie obcych rasowo trutni, wędrówki rójek), prowadzi się ostrą selekcję. Jednym z głównych kryteriów selekcyjnych (oprócz cech zachowania się i produkcyjnych) jest ubarwienie oraz wartość cech morfometrycznych określających przynależność danej rodziny do pszczół środkowoeuropejskich, np. długość języczka, wartość indeksu kubitalnego, szerokość 4 tergitu.

Interesujące badania dotyczące istnienia częściowej naturalnej izolacji reprodukcyjnej pomiędzy podgatunkami pszczół środkowoeuropejskich i kraińskich przeprowadzono w północnej Polsce (60). Na terenie, na którym współistniały oba podgatunki, matki środkowoeuropejskie w trakcie wolnego lotu preferowały trutnie własnego podgatunku, natomiast matki kraińskie parowały się z trutniami pochodzącymi z obu podgatunków. Wskazuje to na istnienie mechanizmu, który może ułatwić realizację ochrony pszczół środkowoeuropejskich.

Rodowód *Apis m. mellifera*

Usystematyzowanie rodzaju *Apis* i gatunku *Apis mellifera* nie jest zadaniem łatwym, gdyż badacze podają różną liczbę gatunków tych owadów. Engel opracował listę gatunków dla pszczół (25) zarówno żyjących, jak i wymarłych, obejmującą 178 gatunków i 10 grup genowych. Autor podaje okres pojawienia się pszczoły w indomalezyjskim regionie we wczesnym oligocenie. Rozprzestrzenianie się pszczół (rodzimych dla Europy, Afryki i Azji Południowowschodniej) z terenów Azji ograniczone było obniżającą się temperaturą. Przystosowanie do tych warunków we wczesnym pliocenie (budowa zakrytych gniazd) pozwoliło na rozszerzenie obszaru bytowania co najmniej dwóm gatunkom *Apis cerana* i *Apis mellifera*. Pszczoła miodna zasiedliła tereny Europy i północno-zachodniej Azji, a *Apis cerana* północno-wschodnie Chiny i wschodnie rejony dawnego ZSRR. Inni badacze mieli odmienne stwierdzenia dotyczące liczby gatunków pszczół. Buttel-Reppen wyodrębnił trzy (16), Goetze (36) i Ałpatov (1) cztery, natomiast Maa (21) opisał aż dwadzieścia cztery gatunki pszczół. Z kolei na podstawie badań Wilde i wsp. (92) wyróżniono dziewięć gatunków *Apis mellifera*. Uwzględniając zasięg bytowania, zachowanie oraz pomiary morfologiczne *Apis mellifera*, można je sklasyfikować jako podgatunki lub rasy geograficzne, należące do czterech grup (93):

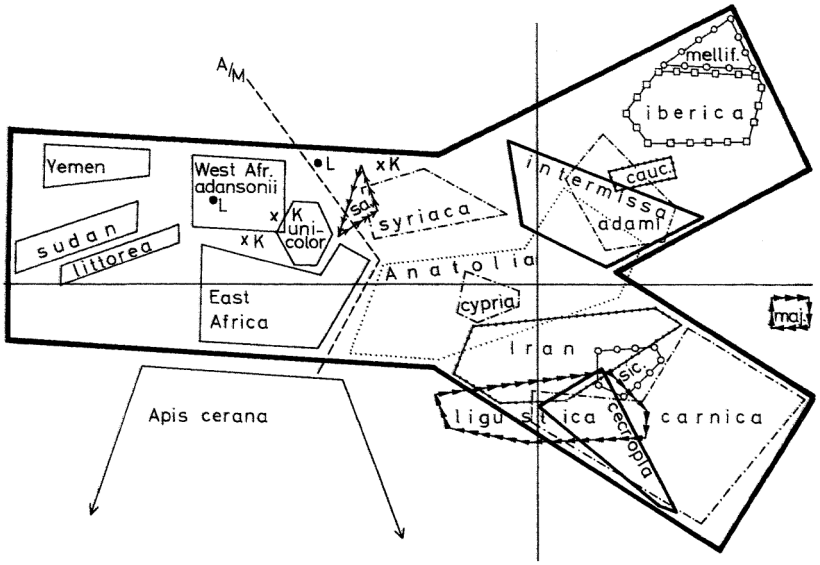
grupa I – ciemne pszczoły z północnej i zachodniej Europy oraz północnej Afryki: *Apis m. mellifera*, *Apis m. iberica*, *Apis m. major*, *Apis m. intermissa*, *Apis m. sahariensis*;

grupa II – pszczoły Bałkanów i pokrewne, które Ruttner określa „grupą pszczół kraińskich": *Apis m. carnica*, *Apis m. macedonica*, *Apis m. cecropia*, *Apis m. ligustica*, *Apis m. sicula* (70);

grupa III – pszczoły orientalne: *Apis m. caucasica*, *Apis m. armenica*, *Apis m. meda*, *Apis m. anatolica*, *Apis m. syriaca*, *Apis m. cypria*, *Apis m. adami*;

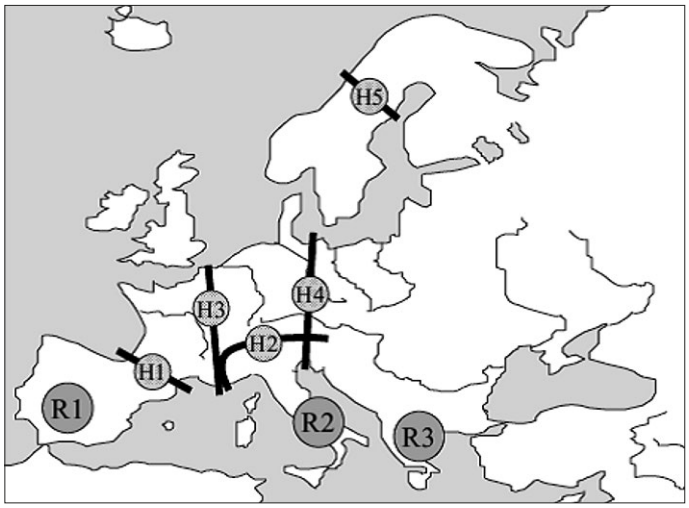
grupa IV – pszczoły afrykańskie: *Apis m. lamarckii* = *Apis m. fasciata*, *Apis m. jementica*, *Apis m. litorea*, *Apis m. scutellata*, *Apis m. monticola*, *Apis m. adansoni*, *Apis m. unicolor*, *Apis m. capensis*.

Obszar Europy od Hiszpanii, Francji poprzez Skandynawię, Niemcy i Polskę aż po góry Ural określa zasięg naturalnego bytowania pszczół grupy I – *Apis m. mellifera* (23, 25, 46, 70, 73). Badania oparte na pomiarach morfologicznych czterdziestu dwóch cech (70) pozwoliły na charakterystykę gatunku *Apis mellifera*, która była podstawą do wyodrębnienia trzech gałęzi ewolucyjnych. Wyniki analizy statystycznej w formie graficznej przedstawia rycina 1, na której widać wyraźne oddzielenie gatunków *Apis cerana* i *Apis mellifera*. Zbiory punktów dla pszczoły miodnej ułożyły się w kształcie położonej na boku litery Y. U podstawy znalazły się pszczoły afrykańskie (linia przerywana) – stanowiące gałąź filogenetyczną A. Niższą gałąź u podstawy zajmują pszczoły z Anatolii oraz Iranu, następnie: *Apis m. ligustica – sicula – cecropia* i najbardziej wysunięta *Apis m. carnica*. Stanowią one gałąź C. Górna gałąź rysunku potwierdza teorię rozprzestrzeniania się pszczół miodnych poprzez kolejność populacji oddalających się od podstawy, a mianowicie: *Apis m. intermissa – iberica – mellifera* (70). Zastosowanie morfometrii geometrycznej pozwoliło na wyodrębnienie czterech linii filogenetycznych (A – „afrykańska" – obejmująca podgatunki bytujące głównie na terenie Afryki; M – „mellifera" – podgatunki zachodnioeuropejskie C – „carnica" populacje wschodnich i południowych Alp oraz północne wybrzeże Morza Śródziemnego; O – „orientalna" – podgatunki ze wschodniego końca zakresu bytowania gatunku) oraz na powtórną weryfikację podziału pszczół miodnych na poszczególne podgatunki (49). Zastosowanie metod biologii molekularnej w analizach DNA pozwoliło na weryfikację przynależności populacji do poszczególnych podgatunków pszczoły miodnej, a także do linii ewolucyjnych. Analizy (DNA) różnego rodzaju markerów molekularnych wskazują na pochodzenie *Apis m. mellifera z* terenów dystrybucji linii filogenetycznej O lub sąsiadujących – obecnie zasiedlanych przez *Apis m. lamarkii* (z Egiptu i Somalii), *Apis m. meda* (z Turcji) i *Apis m. macedonica* (z Grecji), gdzie najprawdopodobniej doszło do rozdziału na linie ewolucyjne – M i C (23).



Ryc. 1. Graficzna prezentacja populacji pszczół (skupień) powstałych na skutek analizy głównych komponentów (70)

Na podstawie badań morfometrycznych w latach 30. i 40. ubiegłego wieku dokładnie określono obszar występowania pszczoły środkowoeuropejskiej. Pierwotny zasięg *Apis m. mellifera*, po ekspansji po ostatnim zlodowaceniu, obejmował od zachodu szeroki pas Europy od Gór Iberyjskich w kierunku wschodnim po Ural. Od południa granicę stanowiły Alpy i Karpaty. Na północy bytowały one na Wyspach Brytyjskich i terytoriach

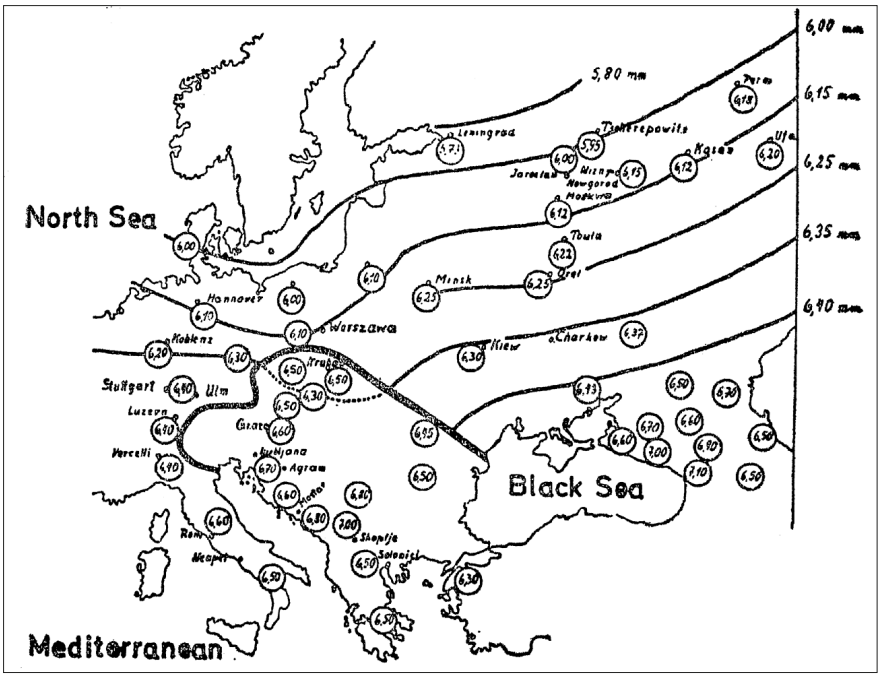


Ryc. 2. Trzy główne śródziemnomorskie refugia i centra różnicowania się południowej Europy podczas ostatniego zlodowacenia (R1: atlantycko-śródziemnomorskie, R2: adriatycko-śródziemnomorskie, R3: pontyjsko-śródziemnomorskie) i lokalizacja pięciu najważniejszych obszarów hybrydyzacji, gdzie różne gatunki powtórnie wchodziły w kontakt podczas polodowcowego zwiększania zasięgu kolonizacji (H1: Pireneje, H2: Alpy, H3: zachodnia część Europy Środkowej, H4: wschodnia część Europy Środkowej, H5: środkowa Skandynawia (76, 84, 85)

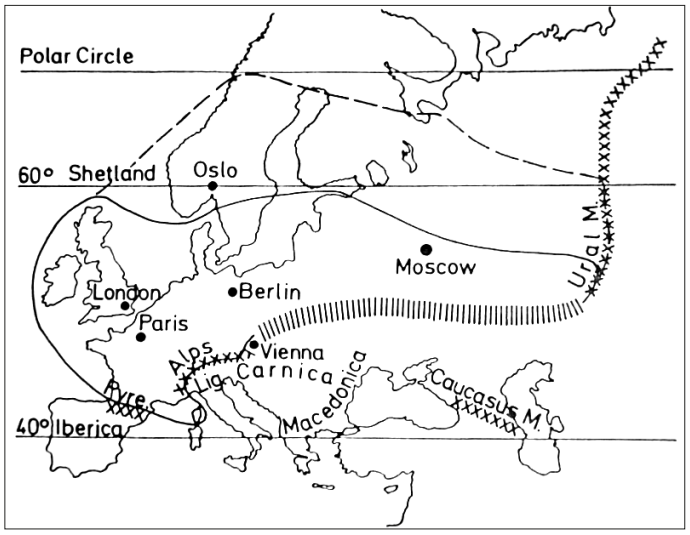
Finlandii, Szwecji i Norwegii aż po koło podbiegunowe. Okres zlodowacenia trwający od około 130 tys. do 10 tys. lat znacząco wpłyną na warunki klimatyczne. W Europie Południowej średnie temperatury były podobne do obecnie panujących w Europie Środkowej i Północnej, a obszary bez pokrywy lodowej stanowiły specyficzne, odizolowane miejsca dające schronienie poszczególnym gatunkom pszczół (84). Istnienie tych enklaw zdaje się potwierdzać wysoka homozygotyczność pszczół *Apis m. mellifera* (26). W okresie zlodowacenia enklawą dla pszczół środkowoeuropejskich był Półwysep Iberyjski (56). Podobnie dla pszczół włoskich takim refugium był Półwysep Apeniński (27). Natomiast wyniki innych badań (55) wskazują na istnienie podobnej enklawy na Półwyspie Bałkańskim. Rozmieszczenie refugiów podczas ostatniego zlodowacenia oraz stref hybrydyzacji gatunków podczas ich ekspansji polodowcowej zostały zobrazowane na ryc. 2. Cykle klimatyczne zlodowaceń miały istotny wpływ na rozprzestrzenianie się i ewolucję gatunków. Dodatkowym czynnikiem była izolacja gatunków na trzech półwyspach oraz istnienie barier w postaci gór – Pirenejów i Alp (75). Ruttner opisał trzy linie filogenetyczne pszczoły miodnej (70), wskazując jednocześnie na wspólnych przodków na kontynencie afrykańskim. Afryka nie była jedynym miejscem pochodzenia pszczoły miodnej, wskazywanym przez badaczy. Demianowicz (21) wskazuje Bliski Wschód, Garnery i wsp. (32) obszar Morza Kaspijskiego, a Ruttner i wsp. (73) terytorium pomiędzy Morzem Śródziemnym a Kaspijskim. Koncepcję potwierdzają badania Franck i wsp. (29) stwierdzające, że populacje iberyjskie są bardziej podobne do populacji francuskich i nie wykazują żadnych śladów „afrykanizacji". Ponadto pszczoły środkowoeuropejskie wykazują większe pokrewieństwo z pszczołami azjatyckimi niż afrykańskimi (6, 69). Wielu autorów potwierdziło pochodzenie pszczół środkowoeuropejskich z południowo-wschodniego obszaru Europy (23, 28, 69).

Charakterystyka *Apis m. mellifera* na podstawie badań morfologicznych

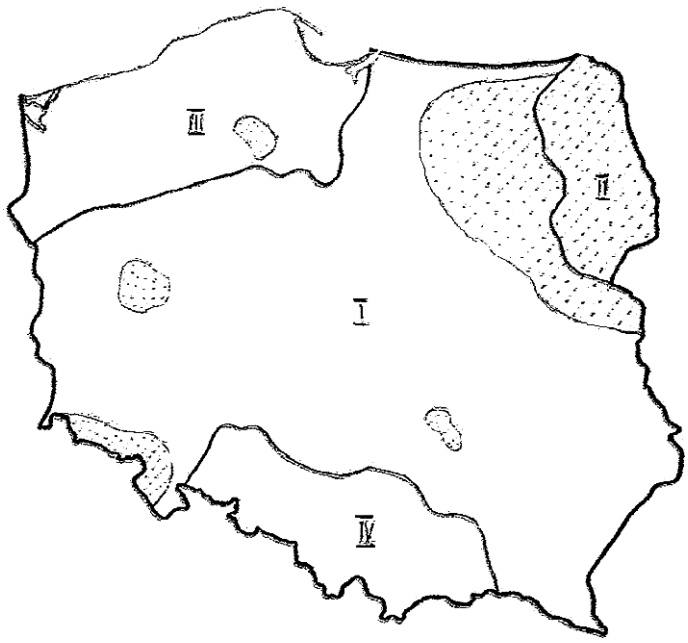
Do początku XX w. podstawą do odróżniania pszczół bytujących na terenie Europy były: nieprecyzyjnie określana ich wielkość oraz ubarwienie. Dokładnego opisu różnych ras pszczół można było dokonać w oparciu o prace (1-4, 36). Dalsze badania i złożone analizy statystyczne cech morfologicznych pozwoliły na wyodrębnienie podgatunków/ras dla gatunku pszczoły miodnej, a także na określenie ich zasięgów bytowania (18, 30, 70, 71). Do oceny przynależności rasowej można stosować tzw. morfometrię geometryczną, opierającą się na pomiarach współrzędnych 19 punktów na skrzydle, pomiarów kątów oraz odległości i porównywania ich do tzw. skrzydła wzorcowego. Opisano także zmiany parametrów morfometrycznych ciała pszczół w zależności od szerokości geograficznej. Ałpatow stwierdził zmniejszanie się długości języczka o 0,81 mm w zakresie od 45° do 60° szerokości geograficznej północnej (4). Goetze przedstawił graficznie podobną zależność (37) (ryc. 3),



Ryc. 3. Rozmieszczenie w Europie pszczół o odpowiedniej długości języczka (37)
Objaśnienie: gruba linia – granica między *Apis carnica* i *Apis mellifera*



Ryc. 4. Rozmieszczenie *Apis m. mellifera* (73)
Objaśnienia: linia ciągła – historyczne rozmieszczenie na zachód, północ i wschód; pionowo zakreskowana – strefa przejściowa do pszczół ukraińskich; linia przerywana – obecna północna granica pszczelarstwa



Ryc. 5. Strefy populacji pszczół środkowoeuropejskich wyodrębnionych na podstawie badań morfologicznych w Polsce (10)
Objaśnienia: obszary zakropkowane – projektowane strefy hodowlane i rezerwaty miejscowej pszczoły; I-IV – typy pszczół wyodrębnione w oparciu o pomiary morfometryczne

a Ruttner potwierdził istnienie takiej zależności także dla długości języczka i długości nogi trzeciej pary również dla zachodnioeuropejskich czarnych pszczół (72). Ruttner i wsp. (73), uwzględniając wyniki dotychczasowych badań, pokazali historyczny zasięg rozmieszczenia pszczół środkowoeuropejskich w Europie (ryc. 4). Natomiast porównanie próbek z badań (73) z próbkami pochodzącymi z Muzeum Brytyjskiego z XIX w. oraz wykopalisk z X w. (osada Vikingów w York) i z końca XII w. (z okolic Oslo) pozwoliło na stwierdzenie, że pszczoła środkowoeuropejska nie zmieniła się zasadniczo w ciągu ostatniego tysiąclecia.

Spośród znanych cech morfologicznych charakteryzujących różne populacje pszczół zaczęto pomijać te, które były mniej istotne z punktu widzenia przydatności dyskryminacyjnej, a jednocześnie bardziej czasochłonne w wykonaniu lub też takie, które nie wnosiły istotnych informacji po włączeniu ich do analizy. Ruttner podał charakterystykę ras europejskich i wschodnich w oparciu o 10 cech morfologicznych (71). Ostatecznie, po analizie dyskryminacyjnej, zdecydowano się na selekcję materiału hodowlanego w oparciu o wartość trzech dyskryminujących parametrów: długość języczka, sumę szerokości 3 i 4 tergitu odwłokowego oraz indeks kubitalny (39).

Pszczoły *Apis m. mellifera* w Polsce

Jednymi z pierwszych badaczy, którzy opisali pszczoły z terenu Polski, byli Bornus i Gromisz. Do lat 60. ubiegłego wieku większość terytorium zasiedlała *Apis m. mellifera* (10, 70-72). Według literatury (10, 37), na północ od linii Tarnów–Częstochowa –Nysa rozciągało się siedlisko *Apis m. mellifera*, natomiast na południe – siedlisko *Apis m. carnica*. Stwierdzono istotną zależność pomiędzy szerokością geograficzną (od 49°15' do 54°30') a wielkością pszczół wyrażaną sumą 3 i 4 tergitu odwłokowego. Wykazano, że wraz ze wzrostem szerokości geograficznej pszczoły zwiększały swoje wymiary. W oparciu o te wyniki na terenie Polski wyodrębniono dwa typy pszczół – „małe", dla których suma tergitów wynosiła od 4,52 do 4,88 mm i „duże" – od 4,80 do 5,04 mm (12).

Na podstawie wyników badań (10) wyodrębniono również cztery obszary, które zasiedlały różniące się od siebie populacje pszczół środkowoeuropejskich (ryc. 5). Na przeważającej części naszego kraju bytowały pszczoły o typowych cechach pszczół środkowoeuropejskich, natomiast na terenie dawnego woj. białostockiego wyróżniono pszczoły bardziej zbliżone do pszczół leśnych – *Apis m. silvarum Scor.*

Na potrzeby hodowców, których celem było utrzymywanie materiału hodowlanego w tzw. „czystości", opracowano modele matematyczno-morfologiczne dla trzech podgatunków/ras geograficznych bytujących na terenie Polski (tab. 1, 2). Podstawą do wyprowadzenia modeli dla odpowiadających im populacji były wartości średnich arytmetycznych uzyskanych w licznych badaniach (pomiarach) cech morfologicznych, pozwalających na ich różnicowanie (11, 13, 22, 38). Model dla pszczół środkowoeuropejskich tworzono także z myślą o ochronie pszczół ras rodzimych.

Tab. 1. Średnie wartości cech w modelu populacji w Polsce (38)

Podgatunki	Szerokość 4 tergitu [mm]	Długość języczka [mm]	Indeks kubitalny [%]
Apis m. mellifera	2,356	6,115	61,4
Apis m. carnica	2,302	6,458	51,2
Apis m. caucasica	2,424	6,976	54,7

Tab. 2. Modele matematyczno-morfologiczne populacji pszczół dla selekcjonowanych ras w Polsce (22)

Cecha	Rasy pszczół		
	środkowoeuropejska	kraińska	kaukaska
Szerokość 4 tergitu	z = 24,2718, $\bar{x}$ – 57,1845	z = 24,2718, $\bar{x}$ – 55,8252	z = 24,2718, $\bar{x}$ – 54,4175
Długość języczka	z = 10,2042, $\bar{x}$ – 62,3980	z = 10,2042, $\bar{x}$ – 65,9184	z = 10,2042, $\bar{x}$ – 71,3878
Indeks kubitalny	z = 0,3110, $\bar{x}$ – 19,0820	z = 0,3110, $\bar{x}$ – 15,9250	z = 0,3110, $\bar{x}$ – 16,9830

Objaśnienia: z – znormalizowana wartość cechy; $\bar{x}$ – średnia wartość rzeczywista cechy dowolnego roju

Tab. 3. Model matematyczno-morfologiczny pszczoły linii M Kampinoska (42)

Cecha	Równanie modelowe
Długość języczka	z = 10,20408, $\bar{x}$ – 62,94898
Szerokość 4 tergitu	z = 24,27184, $\bar{x}$ – 57,08738
Indeks kubitalny	z = 0,31104, $\bar{x}$ – 19,44012

Objaśnienia: jak w tab. 2.

Podobny wzorzec został opracowany dla pszczoły linii M Kampinoska. Zaliczono je do lokalnej populacji środkowoeuropejskiej, w obrębie której wyróżniono swoisty ekotyp pszczół o następujących parametrach: długość języczka – 6,169 mm; szerokość 4 tergitu – 2,352 mm; indeks kubitalny – 62,5% (42). Równania modelu matematyczno-morfologicznego pozwalają na określenie, czy badana rodzina posiada wielkości zgodne ze wzorcem pszczoły linii M Kampinoska (tab. 3), jednakże model matematyczno-morfologiczny dla linii M Kampinoskiej nie znalazł szerszego zastosowania. Wystarczająco precyzyjnie przynależność rasową wszystkich linii *Apis m. mellifera* określano stosując model dla pszczół środkowoeuropejskich, który opracowano w oparciu o te same parametry. W ten sam sposób opracowano równania modeli dla pszczoły kaukaskiej i kraińskiej.

Metody pomiarów morfologicznych były sukcesywnie udoskonalane. Jednym z pierwszych sposobów było posługiwanie się mikroskopem lub uzyskiwanie obrazu skrzydła na specjalnym ekranie i mierzenie go odpowiednio przygotowanymi miarkami. Stosowanie tych technik było bardzo czasochłonne (10, 43, 85). Do oceny przynależności rasowej zaczęto wykorzystywać użyłkowanie skrzydła. Rozwijające się techniki komputerowe dawały nowe możliwości. Rozwój metod pomiaru skrzydeł zmieniał się w miarę upływu czasu. Coraz częściej stosowano różnego rodzaju czytniki, kamery i skanery o wysokiej rozdzielczości do odczytu obrazu skrzydeł oraz programy komputerowe, pozwalające na analizę skanowanych obrazów (20, 24, 35, 50, 51, 65, 66, 74, 83). Analizę parametrów skrzydeł umożliwiło zautomatyzowanie pomiarów (82, 85). W „standardowej" morfometrii, bazującej na użyłkowaniu przedniego skrzydła, brano pod uwagę odległości i kąty pomiędzy wybranymi skrzyżowaniami żyłek. W rozwijającej się morfometrii geometrycznej odczytywane są koordynaty wszystkich skrzyżowań żyłek, natomiast różnice pomiędzy podgatunkami mogą być przedstawione jako wektory deformujące siatkę diagramu. Metoda ta ułatwia interpretację pomiarów w porównaniu do analizy wielu odległości i kątów (49, 86). Porównując wyniki obu metod stwierdzono, że morfometria geometryczna w niewielkim stopniu lepiej klasyfikuje podgatunki w porównaniu do standardowej, jednakże metoda standardowa w wystarczający sposób odróżnia populacje pszczół. Morfometria geometryczna może być wykorzystywana do porównań z wcześniejszymi wynikami badań (69). Ponadto wskazuje się na konieczność porównania rezultatów tej metody z wynikami oceny przynależności rasowej, bazującymi na metodach molekularnych (86).

Charakterystyka *Apis m. mellifera* na podstawie badań genetycznych

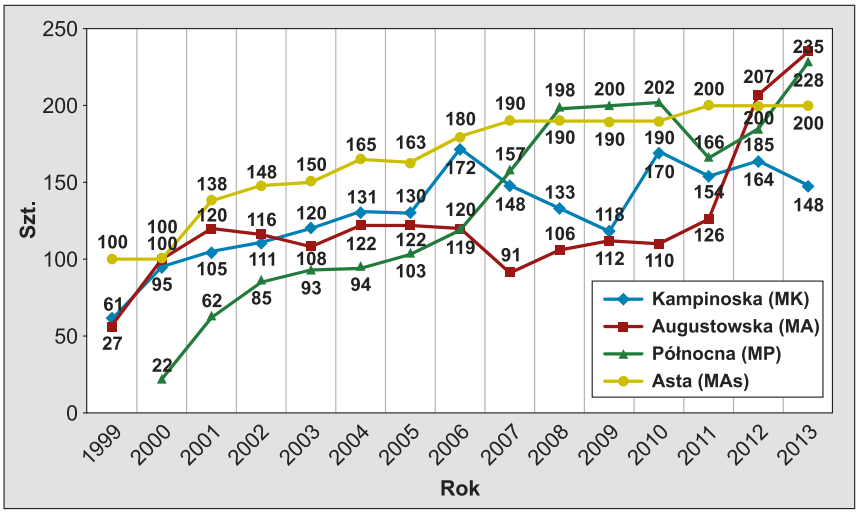
Zastosowanie metod analitycznych DNA pozwoliło na weryfikację przynależności populacji do poszczególnych podgatunków pszczoły miodnej. Dzięki przeprowadzonym analizom DNA możliwy był opis całych genomów, mapy genomowej pszczół miodnych oraz wykorzystanie ponad 550 markerów genetycznych do opisu i porównań populacji pszczół (79, 80). Zastosowano liczne metody molekularne, takie jak: allozymy (14), polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych (PCR-RFLP) mitochondrialnego DNA (34), mikrosatelity (33), polimorfizm pojedynczych nukleotydów (SNP) (91). Dwie z wymienionych metod (PCR--RFLP mtDNA i mikrosatelity) znalazły szczególnie szerokie zastosowanie w badaniach służących ochronie zasobów genowych pszczół ze względu na łatwość analiz i ich niskie koszty (PCR-

Tab. 4. Zakres i średnie wartości indeksu kubitalnego poszczególnych linii pszczoły środkowoeuropejskiej wyznaczony metodą Goetzego (G) i po przeliczeniu metodą Ałpatowa (A) (65)

Linie	Indeks kubitalny wg metody	Zakres	Średnia	Wartość modalna
M Północna	G	1,11-3,62	1,86	1,81
	A	27,62-90,09	53,76	55,25
M Augustowska	G	0,99-3,81	1,85	1,81
	A	26,25-101,01	54,05	55,25
M Kampinoska	G	0,79-3,34	1,76	1,73
	A	29,94-126,58	56,82	57,8
M Asta	G	1,04-4,14	1,96	1,9
	A	24,15-96,15	51,02	52,63

-RFLP) oraz dużą ilość informacji, jakiej dostarczają (mikrosatelity) (57).

Analiza mitochondrialnego DNA (mtDNA) jest przydatna do określenia poziomu zmieszańcowania, a sekwencje mikrosatelitarne – do oceny zmienności genetycznej populacji (5, 33). W badaniach wykorzystywano mikrosatelitarne *loci* oraz mitochondrialne DNA (mtDNA), a zwłaszcza oksydazę cytochromową CO-I i CO-II z wykorzystaniem enzymu DraI, sporadycznie amplifikacje genu cytochromu b (CytB) i trawienie go przy pomocy enzymu BglII (8, 19, 23, 28, 29, 32, 33, 53, 56, 58, 63, 80, 81).



Ryc. 6. Liczebność populacji pszczoły środkowoeuropejskiej objętych programami ochrony w latach 1999-2013 (64)

Analiza restrykcyjna PCR-RFLP polega na amplifikacji wybranego fragmentu DNA mitochondrialnego z użyciem specyficznych primerów w reakcji PCR, a następnie pocięciu tak uzyskanej cząsteczki przy pomocy enzymu restrykcyjnego w miejscach różnicujących linie ewolucyjne pszczoły (57). MtDNA dziedziczy się w linii matecznej, a zatem analizę PCRRFLP wystarczy wykonać na pojedynczej młodej robotnicy z ula lub czerwiu.

mtDNA dziedziczy się w linii matecznej i nie ulega rekombinacji, a podgatunki pszczoły miodnej charakteryzują się dużym polimorfizmem pod względem sekwencji mikrosatelitarnych, na tej podstawie możliwe było prześledzenie i porównanie prawdopodobnych kierunków przepływu genów w długiej historii ewolucyjnej, szczególnie podczas i po ostatnim okresie zlodowacenia (5, 45, 76, 84). *Apis m. mellifera* charakteryzuje się mniejszą zmiennością genetyczną niż większość innych badanych podgatunków pszczoły miodnej. Mimo tej relatywnej homozygotyczności *Apis m. mellifera* rozwinęła się w kilka ekotypów i może przeżyć w bardzo różnym klimacie, od południowej Hiszpanii po Szwecję. Wszystkie te cechy wskazują na wysoki potencjał ewolucyjny i zdolność adaptacji do lokalnych warunków środowiska (33). Analiza populacji pszczół środkowoeuropejskich na obecnie zasiedlonym obszarze wykazała zmienny poziom przepływu obcych genów pochodzących głównie z podgatunku *Apis m. carnica* od 0% w Norwegii do 14% w Danii, natomiast na pozostałym obszarze zmienność genetyczna wynosiła około 30% (63).

Ponieważ większość cech fenotypowych determinowana jest przez geny jądrowe, dziedziczone po obydwojgu rodzicach, dlatego też do oceny pszczół z hodowli zachowawczych powinno się stosować markery DNA jądrowego. Do najszerzej wykorzystywanych obecnie genetycznych polimorficznych markerów mendlowskich należą mikrosatelity. Na podstawie polimorfizmu 9 mikrosatelitarnych *loci* genomu jądrowego Rustem i wsp. (68) prowadzili badania europejskich pszczół miodnych *Apis m. mellifera* z Uralu i Wołgi, największej rezerwy puli genowej pszczoły środkowoeuropejskiej, zawierającej około tysiąca rodzin ciemnych europejskich pszczół miodnych.

Badania z wykorzystaniem mikrosatelitów potwierdziły wysokie zróżnicowanie pomiędzy populacjami lokalnymi pszczoły miodnej. W wielu *loci* obserwuje się wyraźną tendencję geograficzną zmian częstości alleli. Niektóre allele są bliskie utrwalenia w określonych rejonach zasięgu, będąc równocześnie skrajnie rzadkimi w innych. Można więc mówić o istnieniu alleli diagnostycznych dla określonych podgatunków pszczoły miodnej (57).

Coraz częściej analiza DNA stosowana jest w celu eliminacji mieszańców z populacji chronionych (57). Jest to tym bardziej uzasadnione, że badania pszczół środkowoeuropejskich z terenów północno-wschodniej Polski, w tym także z rejonu zachowawczego dla linii Augustowska, uważanej dotychczas za najczystsze w kraju, wykazały 10-30% obcych genów jądrowych (58). Ci sami autorzy przestrzegają jednak przed selekcją opartą tylko na markerach genetycznych, gdyż może to skutkować utratą ważnych genów decydujących o fenotypie w przypadku, gdyby allele diagnostyczne dla pszczół środkowoeuropejskich i allele odpowiedzialne za charakterystyczne cechy fenotypowe pszczół rodzimych nie były sprzężone.

Stosowanie nowoczesnych metod nie wyklucza więc stosowania tradycyjnej oceny morfometrycznej, która jest wprawdzie bardziej czasochłonna, ale tańsza i, co najważniejsze, w wystarczający sposób określa przynależność do rasy. Oprócz tego określa w sposób wymierny takie cechy, jak wielkość pszczół czy długość języczka i pozwala na śledzenie ich zmian, co jest bardzo istotne przy realizacji programów ochrony. Natomiast wprawdzie kosztowne, ale jednocześnie bardzo precyzyjne, badania genetyczne umożliwiają dokładną ocenę stopnia zmieszańcowania na poziomie poszczególnych osobników, czego nie można dokonać w oparciu o badania morfometryczne. W chwili obecnej wprowadzenie selekcji w oparciu

o występowanie określonych alleli nie powinno zastąpić selekcji określonych cech fenotypu. Olekas i Tofilski (59) przeprowadzili badania porównawcze trzech metod określających przynależność rasową. Identyfikację podgatunków przeprowadzono używając analiz: morfometrii geometrycznej, 17 *loci* mikrosatelitarnych oraz mitotypów COI-COII. Uzyskano wysoką korelację między wynikami otrzymanymi za pomocą wszystkich trzech metod. Ponad 90% rodzin zakwalifikowano do tego samego podgatunku, posługując się analizą morfometrii geometrycznej i analizą sekwencji mikrosatelitarnych. Potwierdza to zatem możliwość stosowania morfometrii geometrycznej do wykrywania mieszańców pomiędzy *Apis m. mellifera* i *Apis m. carnica.*

Wnioski:

1. Realizowane w Polsce, na przestrzeni ostatnich czterdziestu lat, programy ochrony zasobów genetycznych *Apis m. mellifera* pozwoliły na utrwalenie i zachowanie charakterystycznych cech morfologicznych chronionych linii.

2. Stosowanie zarówno analizy morfologicznej, jak i genetycznej gwarantuje prawidłowe określenie przynależności rasowej niezbędnej do realizacji założeń programów ochrony zasobów genetycznych pszczoły środkowoeuropejskiej.

3. Monitoring zmian genetycznych i fenotypowych to kluczowy element w realizacji celu, jakim jest zachowanie puli genowej *Apis m. mellifera*.

4. Należy kontynuować realizację programów ochrony zasobów genetycznych pszczoły środkowoeuropejskiej w Polsce, gdyż istnieje realne zagrożenie jej zmieszańcowania.

Piśmiennictwo

1. *Alpatov W. W.*: Biometrical studies on variation and races of the honey bee (Apis mellifera L.). Quarterly Review Biology 1929, 4, 1-58.
2. *Alpatov W. W.*: Porody miedonosnoj pczeły i ich ispolzowanije w sielskom chozjajstwie. Sredi Prirodi 1948, 4, 1-70.
3. *Alpatov W. W.*: Some data on the comparative biologie of differentvbee races. Bee World 1932, 13, 12, 138-139.
4. *Alpatov W. W.*: Über der Verkleinerung der Rüsellänge der Honigbiene von Süden nach Norden hin. Zoologischer Anzeiger 1925, 65, 103-111.
5. *Arias M. C., Sheppard W. S.*: Molecular phylogenetics of honey bee subspecies (Apis mellifera L.) inferred from mitochondrial DNA sequence. Mol. Phylogen. Evol. 1996, 5, 557-566.
6. *Arias M. C., Sheppard W. S.*: Phylogenetic relationships of honey bees (Hymenoptera: Apinae: Apini) inferred from nuclear and mitochondrial DNA sequence data. Mol. Phylogen. and Evol. 2005, 37, 25-35.
7. *Banaszak J., Czechowska W., Czechowski W., Garbarczyk H., Sawoniewicz J., Wiśniowski B.*: Wiad. Entomol. 2000, 18, 177-211.
8. *Behura S. K.*: Analysis of nuclear copies of mitochondrial sequences in honey bee (Apis mellifera) genome. Mol. Biol. Evol. 2007, 24, 1492-1505.
9. *Bornus L., Bobrzecki J., Bojarczuk Cz., Gromisz M., Kalinowski J., Król A., Nowakowski J., Ostrowska W., Woźnica J., Zaremba J.*: Przydatność użytkowa mieszańców międzyrasowych pszczoły miodnej w warunkach przyrodniczych Polski. Pszczel. Zesz. Nauk. 1974, 18, 1-51.
10. *Bornus L., Demianowicz A., Gromisz M.*: Morfometryczne badania krajowej pszczoły miodnej. Pszczel. Zesz. Nauk. 1966, 10, 1-46.
11. *Bornus L., Gromisz M.*: Matematyczne modele populacji pszczół różnych ras. Pszczel. Zesz. Nauk. 1969, 13, 73-83.
12. *Bornus L., Gromisz M.*: Zależność wielkości pszczoły od szerokości geograficznej. Pszczel. Zesz. Nauk. 1963, 7, 49-61.
13. *Bouga M., Alaux C., Bieńkowska 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., Per Kryger P., Le Conte Y., Lodesani M., Murilhas A. M., Siceanu A., Soland G., Uzunov A., Wilde J.*: A review of methods for discrimination of honey bee populations as applied to European beekeeping. J. Apicult. Res. 2011, 50, 51-84.
14. *Bouga M., Kilias G., Harizanis P. C., Papasotiropoulos V., Alahiotis S.*: Allozyme variability and phylogenetic relationships in honey bee (Hymenoptera: Apidae: Apis mellifera) populations from Greece and Cyprus. Biochem. Gen. 2005, 43, 471-483.
15. *Brown M. J. F., I Paxton R. J.*: The conservation of bees: a global perspective. Apidologie 2009, 40, 410-416.
16. *Buttel-Reepen H.*: Apistica. Beträge zur Systematik, Biologie, sowie zur geschlichtichen und geogrsphischen Verbereitung der Honigbiene (Apis mellifica L.), ihrer Varrietäten und der überigen Apis-Arten. Mitteilungen aus dem Zoologischen Museum in Berlin 1906, 3, 114-201.
17. *Büchler R., Costa C., Hatjina F., Andonov S., Meixner M. D., Le Conte Y., Uzunov A., Berg S., Bienkowska M., Bouga M., Drazic M., Dyrba W., Kryger P., Panasiuk B., Pechhacker H., Petrov P., Kezić N., Korpela S., Wilde J.*: The influence of genetic origin and its interaction with environmental effects on the survival of Apis mellifera *L.* colonies in Europe. J. Apicult. Res. 2014, 53, 205-214.
18. *Cornuet J.-M., Fresnaye J., Tassencourt L.*: Discrimination et classification de populations d'abeilles a partir de caractéres biométriques. Apidologie 1975, 6, 145-187.
19. *Cornuet J.-M., Garneeilles Cry L., Solignac M.*: Putative origin of the intergenic region between COI-COII of Apis mellifera L. mitochondrial DNA. Genetics 1991, 128, 2, 393-403.
20. *Daly H. V., Hoelmer K., NormanP., Allen T.*: Computer-assisted measurement and identification of honey bees (Hymenoptera: Apidae). Annals Entomol. Soc. Am. 1982, 75, 591-594.
21. *Demianowicz A.*: Systematyka pszczół. Hodowla pszczół. PWRIL, Warszawa 1974, s. 43-51.
22. *Demianowicz A., Gromisz M.*: Morfologia pszczoły. Pszczelnictwo. Wyd. Promoc. Albatros, Szczecin 1998, s. 111-141.
23. *Diniz-Filho J. A. F., Fuchs S., Arias M. K.*: Phylogeographical autocorrelation ofphenotypic evolution in honey bees (Apis mellifera L.). Heredity 83, 6, 671-680.
24. *Čermak K., Kašpar F.*: A metod of classifying honey bee races by their body characters. Pszczel. Zesz. Nauk. 2000, 44, 81-86.
25. *Engel M. S.*: The taxonomy of recent and fossil Honey Bees (Hymenoptera: Apidae; Apis). J. Hymenoptera Res. 1999, 8, 165-196.
26. *Estoup A., Garnery L., Solignac M., Cornuet J.-M.*: Microsatellite variation in honey bee (Apis mellifera L.) populations: hierarchical genetic structure and test of the infinite allele and stepwise mutation models. Genetics 1995, 140, 2, 679-695.
27. *Franck P., Garnery L., Celebrano G., Solignac M., Cornuet J.-M.*: Hybrid origins of honeybees from Italy (Apis mellifera ligustica) and Sicily (Apis m. sicula). Mol. Ecology 2000, 9, 907-921.
28. *Franck P., Garnery L., Loiseau A., Oldroyd B. P., Hepburn H. R., Solignac M., Cornuet J. M.*: Genetic diversity of the honeybee in Africa: microsatellite and mitochondrial data. Heredity 2001, 86, 420-430.
29. *Franck P., Garnery L., Solignac M., Cornuet J.-M.*: The origin of West European subspecies of honeybees (Apis mellifera): New insights from microsatellite and mitochondrial data. Evolution 1998, 52, 1119-1134.
30. *Fresnaye J.*: Biométrie de l'abeille. Bull. Tech. Apic. Opida 1981, 12-54.
31. *Fried B.*: Mellifera Conservation Project Val Müstair. SICAMM Conference 2012 Lanquart, Switzerland. Mellifera. Proc. Reports 2012, s. 26-28.
32. *Garnery L., Franck P., Baudry E., Vautrin D., Cornuet J.-M., Solignac M.*: Genetic diversity of the west European honey bee (Apis mellifera mellifera and Apis mellifera iberica). I. Mitochondrial DNA. Gen. Select. Evol. 1998, 30, 31-47.
33. *Garnery L., Franck P., Baudry E., Vautrin D., Cornuet J.-M., Solignac M.*: Genetic diversity of the west European honey bee (Apis mellifera mellifera and Apis m. iberica). II. Microsatellite loci. Gen. Select. Evol. 1998, 30, 49-74.
34. *Garnery L., Solignac M., Celebrano G., Cornuet J.-M.*: A simple test using restricted PCR amplified mitochondrial DNA to study the genetic structure of Apis mellifera. Experientia 1993, 49, 1016-1021.
35. *Gerula D., Tofilski A., Węgrzynowicz P., Skowronek W.*: Computer-assisted discrimination of honeybee subspecies used for breeding in Poland. J. Apicult. Sci. 2009, 53, 105-114.
36. *Goetze G.*: Die beste Biene. Verlag Lidloff, Loth&Michaelis. Leipzig 1940, s. 64-198.
37. *Goetze G.*: Die Honigbiene in natürlicher und künstlicher Zuchtauslese. Parey, Hamburg 1964, s. 265-273.
38. *Gromisz M.*: Morfologiczna ocena populacji rojów w pasiekach zarodowych. Pszczel. Zesz. Nauk. 1981, 25, 51-66.
39. *Gromisz M.*: Przydatność niektórych cech morfologicznych w systematyce wewnątrz gatunku Apis mellifica L. Pszczel. Zesz. Nauk. 1967, 11, 37-50.
40. *Gromisz M.*: Założenia hodowli zachowawczej pszczoły kampinoskiej. Pszczelarstwo 1983, 34, 5-7.
41. *Gromisz M.*: Zasoby pszczoły rodzimej i ich ochrona, [w:] Cierzniak T. (red.): Postępy apidologii w Polsce. Wyższa Szkoła Pedagogiczna w Bydgoszczy 1997, s. 47-56.

42. *Gromisz M., Płatek M.*: Model matematyczno-morfologiczny pszczoły kampinoskiej. Pszczel. Zesz. Nauk. 1999, 43, 29-39.
43. *Guler A.*: A morphometric model for determining the effect of commercial queen bee Osage on the native honeybee (Apis mellifera L.) population in a Turkish province. Apidologie 2010, 41, 622-635.
44. *Hatjina F., Costa C., Büchler R., Uzunov A., Drazic M., Filipi J., Charistos L., Ruottinen L., Andonov S., Meixner M. D., Bienkowska M., Gerula D., Panasiuk B., Le Conte Y., Wilde J., Berg S., Bouga M., Dyrba W., Kiprijanovska H., Korpela S., Kryger P., Lodesani M., Pechhacker H., Petrov P., Kezic N.*: Population dynamics of European honey bee genotypes under different environmental conditions. J. Apicult. Res. 2014, 53, 233-247.
45. *Hewitt G. M.*: Post-glacial re-colonization of European biota. Biol. J. Linnean Soc. 1999, 68, 87-112.
46. *Ilyasov A. R., Kutuev I., Petukhov A. V., Poskryakov A. V., Nikolenko A. G.*: Phylogenetic relationshios of dark European honeybees Apis mellifera mellifera L. from the Russian Ural and West European populations. J. Apicult. Sci. 2011, 96, 67-76.
47. *Jaszczyńska M.*: Ochrona zasobów genetycznych pszczół. Wiad. Zootech. 2006, 44, 56-60.
48. *Jaszczyńska M., Troszkiewicz J., Kwiatkowski T.*: The Black bee genetic resource conservation programme in Poland. 45 Naukowa Konferencja Pszczelarska, Puławy 9-10.03.2008, s. 62.
49. *Kandemir I., Özkan A., Fuchs S.*: Reevaluation of honeybee (Apis mellifera) microtaxonomy: a geometric morphometric approach. Apidologie 2011, 42, 618-627.
50. *Kauhausen D., Keller R.*: Methods of classification of honeybee races using wing characters – a review. J. Apicult. Sci. 2003, 47, 103-107.
51. *Kauhausen-Keller D., Keller R.*: Morphometric control of breeding in the honeybee. Pszczel. Zesz. Nauk. 1996, 40, 127-133.
52. *Maryniak S.*: Powojenne dziedzictwo. Pasieka 1946, 1/3, 7-10.
53. *Meixner M. D., Arias M. C., Sheppard W. S.*: Mitochondrial DNA polymorphism in honey bee subspecies from Kenya. Apidologie 2000, 31, 181-190.
54. *Meixner M. D., Buchler R., Costa C., Andonov S., Bienkowska M., Bouga M., Filipi J., Hatjina F., Ivanova E., Kezic N., Kryger P., Le Conte Y., Panasiuk B., Petrov P., Routtinen L., Uzunov A., Wilde J.*: Looking for the Best Bee – An Experiment about Interactions Letters to the Between Origin and Environment of Honey Bee Strains in Europe. American Bee Journal 2015, 155, 663-669.
55. *Meixner M. D., Worobik M., Wilde J., Fuchs S., Koeniger N.*: Apis mellifera mellifera in eastern Europe – morphometric variation and determination of its range limits. Apidologie 2007, 38, 191-197.
56. *Miguel I., Iriondo M., Garnery L., Sheppard W. S., Estbona A.*: Gene flow within the M evolutionary lineage of Apis mellifera: role of the Pyrenees, isolation by distanceand post-glacial re-colonization routes in the western Europe. Apidpologie 2007, 38, 141-155.
57. *Oleksa A., Burczyk J.*: Markery DNA w hodowli zachowawczej rodzimych linii pszczoły miodnej. Wiad. Zootech. 2010, 48, 55-67.
58. *Oleksa A., Chybicki I., Tofilski A., Burczyk J.*: Nuclear and mitochondrial patterns of introgressioninto native dark bees (Apis mellifera mellifera) in Poland. J. Apicult. Res. 2011, 50, 116-129.
59. *Oleksa A., Tofilski A.*: Wing geometric morphometrics and microsatellite analysis provide similar discrimination of honey bee subspecies. Apidologie 2015, 46, 49-60.
60. *Oleksa A., Wilde J., Tofilski A., Chybicki I.*: Partial reproductive isolation between European subspecies of honey bees. Apidologie 2013, 44, 611-619.
61. *Ostrowska W.*: Historia organizacji zamkniętego rejonu hodowli linii kampinoskiej. Pszczelarstwo 1983, 34, 3-4.
62. *Paleolog J.*: Ochrona zasobów genetycznych zwierząt gospodarskich i dziko żyjących. PWRiL, Litwińczuk Z. (red.), Warszawa 2011, s. 195-211.
63. *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., Johnston J. S.*: Genetic integrity of the dark european honey bee (Apis mellifera mellifera from protected populations: a genome-wide assessment using SNPs and mtDNA sequence data. J. Apicult. Res. 2014, 53, 269-278.
64. *Polak G., Bieńkowska M.*: Stan zasobów genetycznych pszczół w Polsce w świetle krajowej strategii zrównoważonego użytkowania i ochrony zasobów genetycznych zwierząt gospodarskich. 50. Naukowa Konferencja Pszczelarska, Puławy16-18.04.2013, s. 31-32.
65. *Rostecki P.*: Zróżnicowanie morfologiczne linii hodowlanych pszczoły środkowoeuropejskiej w rejonach zamkniętych, pasiekach zachowawczych i współpracujących. Praca dokt., Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie 2009.
66. *Rostecki P., Samborski J., Prabucki J., Chuda-Mickiewicz B.*: A comparison of various hardware for themeasurement of the cubital index. J. Apicult. Sci. 2007, 51, 49-53.
67. *Rúa P. De la, Jaffe R., Dall'Olio R., Muñoz I., Serrano J.*: Biodiversity, conservation and current threats to European honeybees. Apidologie 2009, 40, 263-284.
68. *Rustem A., Ilyasov R. A., Poskryakov A. V., Nikolenko A. G.*: The population of the purebred dark European honeybees Apis mellifera mellifera in the Urals and the Volga region. NordBi-Aktuellt, Sweden 2017, 1, 14-15.
69. *Ruttner F.*: Biogeography and taxonomy of honeybees. Evolution. Springer Verlag, Berlin 1988, s. 3-278.
70. *Ruttner F.*: Biometrical-statistical analysis of the geographic variability of Apis mellifera L. I. Material and Methods. Apidologie 1978, 9, 363-381.
71. *Ruttner F.*: Geographical variability and classification (Chapter 2), [w:] Rinderer T. E.: Bee Genetics and Breeding. Academic Press Inc. London/New York 1986, s. 23-56.
72. *Ruttner F.*: Graded geographical variability in honeybees and environment. Pszczel. Zesz. Nauk. 1985, 24, 81-92.
73. *Ruttner F., Milner E., Dews J. E.*: The dark European honeybee Apis mellifera mellifera Linnaeus 1758. British Isles Bee Breeders Ass. Derby, UK 1990, 5-51.
74. *Samborski J., Prabucki J., Chuda-Mickiewicz B., Perużyński G.*: Operation rate and sensitivity of devices used for determining cubital index value. J. Apicult. Sci. 2002, 46, 35-47.
75. *Schmitt T.*: Biogeographical and evolutionary importance of the European high mountain systems. Front Zoology 2009, 6, 1-10.
76. *Schmitt T.*: Molecular biogeography of Europe: Pleistocene cycles and postglacial trends. Front Zoology 2007, 4, 1-13.
77. *Skonieczna Ł.*: Conservation of Apis mellifera mellifera in Poland. BIBBA--SICAMM BIBBA 50th Anniversary Conference 2014 Combined with SICAMM Biennial Conference, September 26-28th 2014 Llangollen, North Wales 2014, s. 28-29.
78. *Skonieczna Ł., Naruszewicz W.*: Protection of natural populations of Apis m. mellifera in isolated areas of Augustów Old Virgin Forest and The Kampinos National Park and conservation breeding program of Północna (North) line. 5th Intern. Conf. Black Bee Apis mellifera mellifera. Wierzba, Poland, 2-6.09.2002, s. 69-84.
79. *Solignac M., Mougel F., Vautrin D., Monnerot M., Cornuet J.-M.*: A third--generation microsatellite-based linkage map of the honey bee, Apis mellifera, and its comparison with the sequence-based physical map. Genom Biology 2007, 8, 66, 1-14.
80. *Solignac M., Vautrin D., Loiseau A., Mougel F., Baudry E., Estoup A., Garnery L., Haberl M., Cornuet J.-M.*: Five hundred and fifty microsatellite markers for the study of the honeybee (Apis mellifera L.) genome. Mol. Ecol. 2003, 3, 307-311.
81. *Solorzano C. D., Allen L., Szalanski A. L., Kence M., McKern J. A., Austin J. W., Kence A.*: Phylogeography and population genetics of honey bees (Apis mellifera) from Turkey based on COI-COII sequence data. Sociobiol. 2009, 53, 237-246.
82. *Steinhage V., Schroder S., Lampe K., Cremers A. B.*: Automated extraction and analysis of morphological features for species identification, [w:] MacLeod N. (ed.): Automated Object Identificationin Systematics: Theory, Approaches, and Applications. CRC Press, Boca Raton, Florida 2007, s. 115-130.
83. *Szymula J., Skowronek W., Bieńkowska M.*: Use of various morphological traits measured by microscope or by computer methods in the honeybrr taxonomy. J. Apicult. Sci. 2010, 54, 91-97.
84. *Taberlet P., Fumagalli L., Wust-Saucy A.-G., Cosson J.-F.*: Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe. Mol. Ecology 1998, 7, 453-464.
85. *Tofilski A.*: Automatic measurement of honeybee wings, [w:] MacLeod N. (ed.): Automated Object Identificationin Systematics: Theory, Approaches and Applications. CRC Press, Boca Raton, Florida 2007, 289-298.
86. *Tofilski A.*: Using geometric morphometrics and standard morphometry to discriminate three honeybee subspecies. Apodologie 2008, 39, 558-563.
87. *Tombacher J.*: Czy istnieje pszczoła kampinoska? Pszczelarstwo 1983, 34, 6-7.
88. *Troszkiewicz J.*: Informator o hodowli pszczół. KCHZ, Warszawa 2006, s. 3-34.
89. *Troszkiewicz J.*: Wykaz pasiek uznanych za zarodowe i reprodukcyjne. CSHZ, Warszawa 1996, 3-17.
90. *Uzunov A., Costa C., Panasiuk B., Meixner M., Kryger P., Hatjina F., Bouga M., Andonov S., Bienkowska M., Le Conte Y., Wilde J., Gerula D., Kiprijanovska H., Filipi J., Petrov P., Ruottinen L., Pechhacker H., Berg S., Dyrba W., Ivanova E., Büchler R.*: Swarming, defensive and hygienic behaviour in honey bee colonies of different genetic origin in a pan-European experiment. J. Apicult. Res. 2014, 53, 248-260.
91. *Whitfield C. W., Behura S. K., Berlocher S. H., Clark A. G., Johnston J. S., Sheppard W. S., Smith D. R., Suarez A. V., Weaver D., Tsutsui N. D.*: Thrice out of Africa: ancient and recent expansions of the honey bee, Apis mellifera. Science 2006, 314, 42-645.
92. *Wilde J.*: Hodowla pszczół. Systematyka pszczoły. PWRiL, Poznań 2008, 19-37.
93. *Wilde J.*: Pszczelnictwo. Systematyka pszczoły. Wyd. Prom. Albatros, Szczecin 1998, 67-110.
94. *Zayed A.*: Bee genetics and conservation. Apidologie 2009, 40, 237-262.

Adres autora: dr hab. Beata Madras-Majewska prof. SGGW, ul. Nowoursynowska 166, 02-787 Warszawa; e-mail: beata_madras_majewska@sggw.pl