



TUDOMÁNYOS DIÁKKÖRI KONFERENCIA

2021. november 24.

Fajtatiszta pannon méhcsaládok fenntartásának támogatása genetikai módszerekkel

Készítette: Hegedűs Bettina
Agricultural biotechnology MSc
Nappali tagozat
Gödöllő

Témavezető: Dr. Stéger Viktor, tanszékvezető, MATE-GBI-GGT

Dr. Varga László András, intézetigazgató helyettes,
MATE-GBI

**Gödöllő
2021.**

Tartalomjegyzék

1	Bevezetés.....	3
2	Célkitűzés	5
3	Irodalmi áttekintés.....	6
3.1	A méhészeti ágazat jelentősége Magyarországon.....	6
3.2	Méztermelő fajok a világ körül.....	6
3.3	A keleti mézelő méh (<i>Apis cerana</i>)	6
3.4	A buckfast hibrid	7
3.5	Az <i>Apis mellifera</i>	7
3.5.1	Származása, elterjedése.....	7
3.5.2	A méhcsalád felépítése, genetikája	8
3.5.3	Az olasz fajta (<i>Apis mellifera ligustica</i>).....	10
3.5.4	A krajnai fajta (<i>Apis mellifera carnica</i>)	11
3.6	Hibridizáció a mézelő méhek esetén	12
3.6.1	A hibridizáció háttere.....	12
3.6.2	Hibridizáció hatásai napjainkban	13
3.7	Populációgenetikai vizsgálatok STR markerekkel	14
4	Anyag és módszer	17
4.1	Mintagyűjtés	17
4.2	DNS izolálás	18
4.3	PCR vizsgálati módszer.....	15
4.3.1	Multiplexek.....	19
4.4	Adatelemzés	21
4.4.1	Fragmentanalízis	21
4.4.2	Populációgenetikai vizsgálatok, rokonsági kapcsolatok	21
5	Eredmények és értékelésük	22
5.1	DNS izolálás	22
5.2	PCR vizsgálatok multiplexekkel.....	22
5.3	Bioinformatikai analízisek.....	27
5.3.1	Genetikai diverzitás a pannon méhek vizsgált populációiban.....	27
5.3.2	Rokonsági vizsgálatok	30
5.3.3	Populációgenetikai vizsgálat, hibridizáció mértéke	32
6	Összefoglalás.....	34
7	Irodalomjegyzék.....	35
8	Köszönetnyilvánítás	42
9	Mellékletek.....	43

Rövidítések jegyzéke	
μl	microliter-mikroliter
μM	micromole-mikromól
bp	base pair-bázispár
cM	centi Morgan
db	darab
DNS	deoxyribonucleic acid-dezoxiribonukleinsav
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid-Etilén-diamin-tetraecetsav
kb	kilobase pair-kilobázispár
PCoA	Főkoordináta analízis
PCR	Polimerase Chain Reaction-polimeráz láncreakció
SCAR	Sequence Characterized Amplified Region-Szekvencia jellemzett amplifikált régió
SNP	Single Nucleotide Polymorphism-Egy pontos nukleotid polimorfizmus
SSR	Simple Sequence Repeat-Egyszerű szekvencia ismétlődés
STR	Short Tandem Repeat-Rövid tandem ismétlődés
VNTR	Variable Number Tandem Repeats-Változó számú tandem ismétlődés
ntc	No template control – negatív kontroll
OMME	Országos Magyar Méhészeti Egyesület
MMOE	Magyar Méhtenyésztők Országos Egyesületének

1. Bevezetés

A történelem folyamán a növénytermesztés és az állattenyésztés során az emberek több fajt is nemesítettek, melyek közül a mézelő méh (*Apis mellifera*) már több mint 7000 éve játszik szerepet a mezőgazdaságban (Oldroyd 2012). Ez a rovarfaj a kezdetektől fogva nem csupán meghatározó a méhészeti termékek (pl. méz, viasz) előállításában és a növények beporzása által a gazdaságban (Klein et al. 2007, Gallai et al. 2009; Chauzat et al. 2013), hanem az ökológiai egyensúly fenntartásában is szerepet játszik (Winston 1991).

Hazánkban az egyetlen elismert és tenyésztendő méhfajta a pannon méh (*Apis mellifera carnica pannonica*), ami több mint 50 éve vesz részt a tenyésztési programokban, az MMOE (Magyar Méhtenyésztők Országos Egyesületének) 2001-ben pedig jogosultságot kapott a méhfajta törzskönyvezésére és származási igazolás kiadására is. A pannon méh az egyik gazdaságilag jelentős fajta, a krajnai méh (*Apis mellifera carnica*) helyi változata, melyet magyar méhként 1934-ben határoztak meg és dokumentáltak először (Örösi 1934; Péntek-Zakar et al. 2015; I1.).

Az *Apis mellifera* fajtáinak különböző morfológiai és viselkedési tulajdonságai vannak, melyek elsősorban a populációk elkülönülése után alakultak ki, az új környezethez történő alkalmazkodás során. Így elmondhatjuk, hogy a honos pannon fajta jellemzői bizonyulnak a legmegfelelőbbnek a Magyarországon uralkodó éghajlati viszonyokhoz. A fajta tenyésztése ma már ellenőrzött körülmények között zajlik, azonban az importált tájidegen (pl. Buckfast hibrid), vagy a szomszédos élőhellyel rendelkező (pl. *Apis mellifera ligustica*) fajtákkal és azok hibrideivel történő keveredésével az őshonos tiszta vonal veszélybe kerülhet (Muñoz et al. 2020).

A téma fontosságát bizonyítja, hogy Bulgáriában már megfigyelhető ez a hibridizációs hatás. Az ott natív *Apis mellifera macedonica* mára már nagy mértékben keveredett több más fajtával, mint például az *Apis mellifera carnica*-val, és a görög *Apis mellifera cecropia*-val. Az ilyen mértékű hibridizáció veszélye az, hogy idővel a honos fajták genetikai jellegzetességei és az előnyös tulajdonságai (pl. szelídség) akár el is veszhetnek (Muñoz et al. 2020).

Ez a veszély fennállhat a magyarországi méhpopuláció esetén is, mely megelőzésének céljából hozták a különböző méhfajták tenyésztését korlátozó rendelkezéseket. A hibridizáció veszélye azonban a szomszédos élőhellyel rendelkező populációk között továbbra is jelen van, aminek hatása azonban a rovarok morfológiai tulajdonságain nem jelenik meg minden esetben. Így egy genetikai alapon működő, az *Apis mellifera carnica pannonica* méh fajtatisztaságának

mértékét vizsgáló módszert fejlesztettünk ki, mely rokonságvizsgálatra is lehetőséget nyújthat. Ez nagy segítséget jelenthet a mesterséges termékenyítés esetén használt tenyésztési állomány ellenőrzésében, továbbá az állományok beltenyésztettsége során fellépő esetleges értékromlás elkerülésében is (Plate et al. 2020).

2. Célkitűzés

A kutatás célkitűzése, hogy a vizsgálati módszer segítségével a Magyarországon értékesített méhanyák, a mesterséges termékenyítéskor felhasznált genetikai anyag és így közvetetten a hazai méhállomány fajtatisztaságának monitorozása, szelektálása hatékonyabbá váljon. Ezzel elősegítve a honos *Apis mellifera carnica pannonica* méhfajta tiszta vonalának fenntartását, az erős hibridizációs hatások ellenére.

A vizsgálatokban az MMOE 4 központi teljesítményvizsgáló telepe (KTV telepek), illetve 4 méhanyanevelő méhészete vett részt. A méhészek a mintavétel időpontjában legjobb termelési tulajdonságokkal (pl.: méztermelés, elszedhető virágpór mennyisége) rendelkező méhcsaládjaik közül biztosítottak mintákat, mivel ezektől a családoktól származhat a későbbiekben, az inszeminálási programban felhasznált örökítő anyag is.

Célunk az, hogy a vizsgált méhcsaládok genetikai állományát összehasonlítsuk a hibridizáció szempontjából legvalószínűbb fajokkal/fajtákkal, és az eredmények segítségével szelektáljuk a tájidegen genetikai anyaggal rendelkező családokat a magyar tenyészállományból.

3. Irodalmi áttekintés

3.1 A méhészeti ágazat jelentősége

A mézelő méhek (*Apis mellifera*) világszerte rendkívül jelentős szerepet töltenek be a mezőgazdaságban és ökoszisztémában. Részt vesznek a gazdaságilag hasznos növények beporzásában (Klein et al. 2007, Gallai et al. 2009), mindeközben az általuk előállított termékeket (pl. méz, méhpempő, viasz) többek között az élelmiszeripar és gyógyszeripar is hasznosítja (Gallai et al. 2009, Chauzat et al. 2013; I2.). Az Európai Unió a világ méztermelésének 14%-át szolgáltatja, mialatt mézpiacának önellátottsági foka 60%, az EU-n belül 2018-ban Magyarország méztermelési szempontból a 7. legjobb helyen teljesített (I4.). A mézelő méhek gazdasági jelentősége megfigyelhető abból is, hogy 2018-ban a magyarországi méhészetek az állattenyésztés 5,6%-át tették ki, míg a mezőgazdaság bruttó termelési értékének megközelítőleg 1,3%-át (~35 milliárd forint), ami jelentős gyarapodást jelentett a 2015-ben becsült 24,5 milliárd forinthez viszonyítva. (Oravecz et al. 2020). További szempont, hogy az ágazat fő- vagy részmunkaidős állást, ezáltal jövedelmet biztosít rengeteg embernek.

3.2 Méztermelő fajok a világ körül

Taxonómiai szempontból nézve minden az állatok (*Animalia*) országába tartozó élőlény, így a rovarok is az eukarióták doménjában találhatók. A gazdaságilag jelentős fontossággal bíró, méztermelő rovarfajok ezen belül az *Arthropoda* (ízeltlábúak) törzs, *Insecta* (rovarok) osztályán belül, a *Hymenoptera* (hátyásszárnyúak) rendjének *Apidae* (méhfélék) család, *Apinae* alcsalád *Apis* nemébe sorolhatóak. Ilyen nagyobb mennyiségű mézet termelő az ázsiai méh (*Apis cerana*), a nyugati mézelő méh (*Apis mellifera*) és az óriás méh (*Apis dorsata*) (Whitfield et al. 2006; Radloff et al., 2011; I18; Dar, 2019).

3.3 A keleti mézelő méh (*Apis cerana*)

Az *Apis cerana*, több néven is ismert (pl. ázsiai vagy keleti méh) és a harmadik legkisebb a mézelő méhfajok közül. Megtalálható a trópusi esőerdőtől és szavannától a nedves kontinentális lombhullató erdőkön át a tajgáig. Így Dél- és Délkelet-Ázsiában is jelen van, mint például Kínában, Indiában, Japánban, de Szibériában, és a Himalája területén is (Gupta, 2014; Dar, 2019). Ez azért nem jelent problémát számukra, mert 6-8 °C-os hőmérsékleten is aktív és képes repülni, ami 2-4 °C-kal alacsonyabb a nyugati méhek értékénél. Továbbá az ázsiai méhek esetében az *A. mellifera*val ellentétben a dolgozók hőszabályozásának köszönhetően a fészek belsejében nem 35°C, hanem 41°C a van általában. A herék szintén eltérnek a nyugati méhektől, hiszen velük ellentétben itt a hímek kisebbek a dolgozóknál. (Szalainé 2002).

Mivel ez a méh is üregben építi ki a fészket, így nem meglepő, hogy az *Apis mellifera* mellett ez a faj is domesztikálható volt. Kisebb családokban és lépeken élnek, mint a nyugati mézelő méhek, ebből kifolyólag kevesebb az általuk termelt méz mennyisége is. Mivel ez a faj gazdaságilag fontos, azonban az európainak nagyobb a termelése, így idővel megjelentek a piacon. A kereskedelem alatt Ázsiába bekerültek olyan új betegségek, és élősködők, mint a légcsőatka (*Acarapis woodi*), a költésrothadások bacillusa (*Paenibacillus larvae* - amerikai és *Melissococcus pluton-európai*), és a költésmeszesedés gombája. Ezzel egy időben Ázsiából is kikerültek az *A. mellifera*-ra ártalmas ragadozók, kórok és paraziták, amik felelősek az állományok csökkenéséért. Ilyen például az ázsiai lódarázs (*Vespa velutina*), *Varroa destructor* atka, a *Nosema ceranae*, amelyek ellen az *A. cerana* rendelkezik védekező mechanizmussal, azonban az *A. mellifera* nem (Gupta, 2014; Chantawannakul et al. 2016).

3.4 A buckfast hibrid

A Buckfast hibrid méhvonal Adam testvér (1898-1996) nevéhez fűződik az Egyesült Királyság délnyugati részében található Buckfast apátságából. Az előállításában elsősorban anatóliai-, olasz- és krajnai méheket keresztezett. Célja az volt, hogy egy olyan kiváló hibrid fajtát készítsen, amely tolerálja a légcsőatkát (*Acarapis woodi*), ellenálló betegségekkel szemben, szelíd, erős higiénikus hajlammal rendelkezik, jól alkalmazkodik a téli körülményekhez, a hűvösebb területekhez és termelékeny. (MAREEC 2004, Sammataro és Avitabile, 2011; Péntek-Zakar 2014).

3.5 Az *Apis mellifera*

3.5.1 Származása, elterjedése

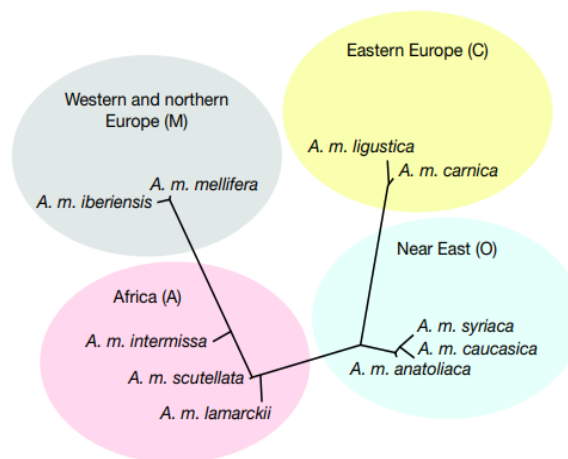
Az *Apis mellifera* igen elterjedt, hiszen a többi fajtól eltérően Ázsián (nyugati része, Közép- és Közel-Kelet) kívül honos Európában és Afrikában is. Mi több, az Antarktikán kívül az emberi tevékenységek által eljutott a Föld szinte összes kontinensére, ahol gyorsan teret hódított (Dar, 2019).

Ennek egyik oka a leletekből feltételezve az, hogy bár a rovarok 300, míg azon belül a hártvány szárnyúak 200 millió éve jelentek meg a Földön, az *Apis* nemhez tartozók az oligocén időszakban (mely 23 millió évvel ezelőtt ért véget) Európából származnak, ahonnan tovább terjeszkedtek Ázsiába. Ezután a miocén földtörténeti kor alatt, a nem mindkét kontinensen diverzifikálódott. Az ősi méhek ezután Ázsiából Észak-Amerikába, Európából pedig Afrikába vándoroltak, ahol később a modern *A. mellifera* fajja fejlődtek.

Ázsiában az ősi éghajlati viszonyok kedvezőek voltak, így kialakulhattak a mai Ázsiában található *Apis* fajok. Ezalatt azonban Európában és Észak-Amerikában uralkodó körülmények,

az ott található *Apis* nemzetség kihalását eredményezték. Ázsiával egyetemeben Afrikában viszont szintén megmaradt az oda vándorolt nemzetség, így később onnan Európába és Nyugat-Ázsiába tudott terjeszkedni a holocén időszak (10-12000 évvel ezelőtt kezdődött) alatt. Az Észak-Amerikában kipusztult populációk helyére azonban az évezredek során egészen addig nem érkeztek új mézelő méhek, amíg az ember vissza nem telepítette őket a Kr. u. 17. században (Sammataro és Avitabile, 2011; Kotthoff et al. 2013; Dar, 2019).

Az *Apis mellifera*nak mára a Földön több mint 30 alfaja van a hibrideket is beleszámolva. Ezeket először morfológiai jegyek alapján különböztették meg, azonban napjainkban már genetikai alapú módszerek is rendelkezésre állnak (Ruttner et al. 1978; Garnery et al., 1993; Robert és Philipp 1997; Meixner et al., 2013; Muñoz et al. 2020). Az alfajokat jelenleg genetikailag 4 evolúciós leszármazási vonalba tudták sorolni (1. ábra). Honos élettereiket pedig kutatások szerint nem a földrajzi akadályok (folyók, hegyek) választják szét, hanem az egyes területek közti éghajlati különbségek, mint például az átlaghőmérséklet. Ezt bizonyítja, hogy bár a Kárpátok mindkét oldalán megtalálhatóak az *A. m. carnica* és az *A. m. macedonica* mézelő méhek, az előbbi a 9 °C alatti, míg az utóbbi a 9 °C feletti átlaghőmérsékletű régiókban fordulnak főként elő. Ez az elterjedési terület-választás hatással lehet a jövőbeli biogeográfiára a várható globális éghajlati változások fényében. A hét leggyakrabban előforduló alfaj a következő: az *A. m. monticola*, *A. m. adansonii*, *A. m. caucasica*, *A. m. scutellata*, *A. m. mellifera*, és az *A. m. carnica* (Coroian et al. 2014; I2.; Ostroverkhova et al., 2018).



1. ábra: Az *Apis mellifera* legjelentősebb alfajai csoportosítva
Forrás: Weinstock et al. 2006

3.5.2 A méhcsalád felépítése, genetikája

Az *Apis mellifera* faj tagjai általánosan használt modellek a társas viselkedés tanulmányozásában, mivel "euszociális" rovarkolóniákban élnek két kasztra bontva, ahol az

egyik az utódokat nemző királynő, a másik pedig az altruista dolgozókat foglalja magába (Winston 1991; Weinstock et al. 2006).

A faj családjai tehát egy anyából, több tízezer nőtény dolgozóból és tavaszi-nyári időszakban több száz vagy akár pár ezer hím heréből állhatnak. A méhanyák poligámok, tehát megfelelő időjárási körülmények között kikelés után egy héten belül kirepülnek párzani (nászrepülés), mialatt több here örökítő anyagát is elraktározhatják. A hímek fullánkkal nem rendelkeznek, ivarszervük pedig párzás alkalmával az anya fullánkkamrájába szakad, ami miatt a herék pár órán belül elpusztulnak. A méhanya spermatékája viszont, a megtermékenyítés után 4,3-7 millió spermiumot tartalmazhat, ami felhasználásával élete nagy részében naponta nagyjából 1000-2000 petét fog lerakni, akiket a fiatal dolgozó méhek (dajkák) fognak ellátni. A dolgozók feladatai az életük előrehaladtával folyamatosan változnak (gondozás, lép építése, élelem gyűjtése, méz érlelése, fészek védelme, hőmérséklet fenntartása), a szerveik fejlődésével összhangban (Faluba 1983; Szabo és Heikel, 1987; Sammataro és Avitabile, 2011).

A nyugati mézelő méh esetében is, a hártáásszárnyúak rendjébe tartozó fajokhoz hasonlóan a hím egyedek a lerakott, de meg nem termékenyített petékből alakulnak ki, így az „apák” genetikai anyaga nélkül ezek az egyedek haploidok, azaz 1 kromoszómakészlettel rendelkező rovarok lesznek. Ezáltal ezek nem csupán a mitokondriális örökítőanyagukat, hanem a teljes genetikai állományukat az anyától/királynőtől kapják (Gupta, 2014).

Ezt a fajta nemhatározást haploid-diploid rendszernek nevezzük. A méhek esetében egy családban, a dolgozó méhek (nőtények) és az anya diploid egyedek, míg a herék/drónok (hím egyedek) haploidok vagy másképpen monoploidok. Az *Apis* fajoknál ez azt jelenti, hogy haploid drónoknak 1 kromoszómaszettjük van (anyai), ami 16 db kromoszómát jelent, míg a nőtényeknek kétszer ennyi, azaz összesen 32 db-uk van (16 anyai - 16 apai). A dolgozó méhek ivarszervei nem alakulnak ki megfelelően, így a családban csupán a már bepárazott anya képes diploid, a komplementer nemmeghatározó génre (CSD) heterozigóta, azaz nőtény méheket létrehozni. Az anya genetikailag egyezik a dolgozókkal, kasztját csupán a lárvaként kapott táplálék szabja meg (Wilde és Beetsma, 1982). A diploid nőtény dolgozók bizonyos esetekben tesznek le petéket (álanyák), azonban mivel ezek nem képesek megtermékenyülni, csupán haploid hemizigóta herékké tudnak fejlődni. A ritkán előforduló, a CSD génre mutáció hatására homozigóta diploid hímekeket a dolgozók még időben észreveszik, és elpusztítják (genetikai diverzitás megőrzése). Bizonyos esetekben kikelnek, azonban az ivarszervük fejlődési rendellenessége miatt sterilek lesznek (Beye et al. 1999; The Honeybee Genome Sequencing Consortium, 2006).

Az ilyen fajoknál (pl. hangyák, darazsak) genetikai állományt tekintve kijelenthetjük, hogy a hímek átlagosan csupán 25%-ban egyeznek meg genetikailag a dolgozó testvéreikkel, míg 100%-ban az anyával. A dolgozók rokoni kapcsolatait nézve érdemes megjegyeznünk, hogy a méhanya poligám, azaz nem csupán egy herével párzik. Emiatt az egy családból származó dolgozó méhek nem feltétlenül édestestvérek, ami egy felől növeli a populáción belüli genetikai diverzitást, más felől magyarázattal szolgálhat az altruista viselkedési formájukra. Ennek oka, hogy az anyai kromoszómák rekombinációja, és az apák monoploiditása miatt, átlagosan 75%-ban egyezik dolgozók genotípusa. Korábbi kutatások szerint, a rokonszelekció hátterében az állhat, hogy mivel a nőtény méhek közelebbi rokonságban vannak a lánytestvéreikkel, mint a dolgozók esetleges haploid utódaival, így a saját génjeik fenntartása érdekében kifizetődőbb számukra az anya utódainak túlélésének elősegítése. Ennek a hipotézisnek sokáig igazat adtak, azonban az újabb vizsgálatok alapján a helytállóságát vitatni lehet a populációs nemi arányok, és a társas viselkedés kölcsönhatásainak összehasonlításakor (Rautiala et al. 2019).

3.5.3 Az olasz fajta (*Apis mellifera ligustica*)

Az olasz mézelő méh az olaszországi Appennini-félszigetről származik, de természetes élőhelye kiterjed északabbra is. Így nem meglepő, hogy az *A. m. mellifera*-val és *A. m. carnica*-val képzett hibridjei természetes körülmények között is kialakulnak. Azonban mivel kedvező tulajdonságai miatt (alkalmazkodás, hordás, szelídség, jó higiénias viselkedés, kis rajzási hajlam, ellenállás az európai nyúlós költésrothadással szemben) igazán kedvelt alfaj a méhészek körében, így mesterséges hibrid vonalakat is létrehoztak belőle, mint például a buckfast hibridek. Ezenkívül az Amerikába importált mézelő méhek nagy hányada is olasz eredetű (Woodward 1993; Franck et al. 2000; Sammartaro és Avitabile, 2011).

Az olasz méh jellegzetes színe sárga, sötétbarna sávokkal a potroh alsó részén; az "aranyszínűek" öt, míg a "bőrszínűek" három sávval rendelkeznek. Különlegesség, hogy az alfajnál inkább a színeknek van több szerepe a tájékozódásban, mint a tárgyak elhelyezkedésének. Rossz tulajdonságaik közé tartozik, hogy mivel rövidebb távolságokat tesznek meg, ezért hajlamosak a közeli gyengébb kolóniákat kirabolni. Továbbá, mivel tavasszal lassan gyarapodik a populációjuk, és ősszel sokáig fiasítanak, így a koratavaszi méztermelésre nem alkalmasak, és a téli élelem gyakran nem elég számukra tavaszig. Hajlamosak a betegségekre, és azok terjesztésére is (Szalainé 2002; Sammartaro és Avitabile, 2011).

3.5.4 A krajnai fajta (*Apis mellifera carnica*)

A krajnai méh (*Apis mellifera carnica*) nevét a Karnika Alpok területéről kapta, mivel eredetileg a Kravankák hegyláncáról, az osztrák-szlovén (régi irodalmakban Jugoszlávia). határ területeiről származik. Megtalálható a Kárpátok hegyvonulatán, a Kárpát-medencében, az Alpokban, tehát Ausztriától Dél-Lengyelországon át, egészen a dalmát partokig (2. ábra).

Kontinentális és mediterránhoz hasonló éghajlati területeken is megél, mivel jó hőtűrő és áttelelő képességekkel rendelkezik. A krajnai méhfajták közül pedig a legészakibb, az 50. szélességnél kialakult tájfajtát tekinthetjük a legjobbnak áttelelési szempontból. (Szalainé 2002; Sammataro és Avitabile, 2011)



2. ábra: A krajnai fajta változatainak elterjedési területei
Forrás: Ruttner 1992

Morfológiailag eltér az olasz alfajtól, hiszen potroha nem sárga, hanem szürkésfekete-barna, világos szőrökkel. Bár szelíd, mint az *A. m. ligustica*, termelési tulajdonságai is mások, hiszen tavasz kezdetén gyors gyarapodás jellemzi, ami alkalmassá teszi a korai virágok beporzására és méztermelésre. Például a család már rendelkezik a gazdaságilag fontos nektártermelő, általában május közepére eső akác közben szükséges 60-70 ezer dolgozóval. Ezenkívül, mivel jobban bírják a hideg körülményeket, így reggel hamarabb kezdenek el dolgozni, míg délután később térnek vissza a kaptárakba, így fokozva a termelést. Továbbá ősszel az anya hamarabb abbahagyja a fiasítást, így a családnak kevesebb élelemre van szüksége a tél folyamán, amiért elegendő élelmük marad a téli időszakra. Mivel hosszabb repülőtávot tesznek meg az olasszal szemben, így nem meglepő, hogy ritkábban rabolják ki a közeli, gyengébb családokat, így a

betegeségeket is ritkábban terjesztik. Egy másik eltérés az *A. m. ligusticától*, hogy tájékozódásuk a színek helyett az alakzatok felismerésén alapszik (Szalainé 2002; Sammataro és Avitabile, 2011).

Kedvezőtlen tulajdonságként említhetjük, hogy ha nincs elég helyük a terjeszkedésre, képesek rajzani. Ezenkívül a gyors populációnövekedés miatt, ha valami okból nincs elég élelmük kora tavasszal, éhezhetnek, ami rabláshoz vezethet. Továbbá mivel a királynő sötét színű, így nehezebben lehet észlelni a dolgozók között. Hajlamosak olyan megbetegedésekre, mint például a költésmeszesedés (*Ascosphaera apis* okozza), az amerikai (*Paenibacillus larvae* okozza) és európai (*Melissococcus pluton* fertőzés) költésrothadás, szárnydeformitás (deformed wing virus, DWV) de a paraziták is veszélyt jelentenek számukra (pl. *Varroa destructor* atka) (Szalainé 2002; Sammataro és Avitabile, 2011).

Magyarország területén csupán a honos pannon méhfajta (*Apis mellifera carnica pannonica*) tenyésztése engedélyezett, mely 2001-ben kapta meg az állami elismerést, mint különálló fajta. Sokáig krajnai méhnek hívták, külön megnevezéssel nem bírt, azonban 2012. augusztus 21-én, a NÉBIH engedélyével megkapta a pannon méh nevet, így szakirodalmakban napjainkban így található meg (Horváth et al. 2013). Az *Apis mellifera carnica* alfajon belül, a pannon méhen kívül még két tájegységi változat található: az alpesi (elterjedése: Ausztria, Szlovénia) és a dalmát, avagy bulgáriai (elterjedése: adriai partok) (Péntek-Zakar et al. 2015; Muñoz et al. 2020; I.).

3.6 Hibridizáció a mézelő méhek esetén

3.6.1 A hibridizáció háttere

A szomszédos élőhellyel rendelkező alfajok természetes módon is hibridizálódnak az évek folyamán (Beekman et al., 2008). Legtöbb esetben az alfajok elterjedését földrajzi határokhoz kapcsolják (pl. hegyek, folyók stb.), mivel azok fizikailag korlátozzák be az állatok mozgását. Azonban újabb kutatások kimutatták, hogy a geográfiai határok mellett, az éghajlati tényezők is szerepet játszhatnak ebben, például az *A. m. carnica* és az *A. m. macedonica* esete. A klímaváltozás tehát befolyásolhatja egyes fajok/alfajok elterjedését, ezzel új lehetőséget nyitva az eddig ismeretlen hibridek megjelenésére (Coroian et al., 2014).

A természetes hibridizáció mellett a mézelő méhek teljesítményének és kedvező hajlamainak tökéletesítése érdekében, az ember már a kezdetektől próbált jobb tulajdonságú hibrid vonalakat létrehozni, és fenntartani. Ilyen hibrid például a buckfast, a starline, és a cordovan is (Sammataro és Avitabile, 2011).

Azonban direkt hibridizáció mellett az emberi tevékenységek közvetetten is okozhatják a natív fajták hibridizációját, például tájidegen fajták tartásának eredményeképp. Az európai mézelő méhek diverzitását az is veszélyezteti, hogy a méhészek néhány genetikai vonalat előnyben részesítenek a natív fajtákkal szemben. Ezzel kiszorítva azokat, továbbá a csökkent natív tenyészegyszáma miatt megnövelve az esélyét, egy hibrid populációk létrejöttének. A klímaváltozás és a vándorlás miatt azonban, az afrikai eredetű méhek elterjedése is újabb veszélyt jelenthet (Bieńkowska et al., 2021; Oleksa et al., 2021).

3.6.2 Hibridizáció hatásai napjainkban

Az egyik legszembetűnőbb eset az ember gondatlanságából okozott hibridizációra 1957-ben kezdődött, mikor Brazíliában egy kísérleti tenyésztés során *Apis mellifera scutellata* (Dél- és Kelet-Afrikában honos alfaj) egyedek szabadultak ki a természetbe. Amerikában akkorra a korábban Európából behurcolt főként *A. m. ligustica* fajták honosodtak meg, melyek az 50-es években a kikerült afrikai méhekkal kezdtek el hibridizálódni. Ezeket az afrikai-európai hibrid mézelő méheket napjainkban "afrikanizált" mézelő méheknek vagy gyilkos méheknek hívjuk, és ökológiai szempontból a legsikeresebbek közé tartoznak; mivel megjelenésük után rövidesen kezdték kiszorítani a korábban betelepített fajokat. Napjainkban elmondhatjuk, hogy bizonyítottan rendelkeznek előnyös tulajdonságokkal (pl. *Varroa destructor* rezisztencia), ami segíthette őket, hogy a kontinens nagy részét meghódítsák. Megfigyelések szerint, a hibrid populációkból idővel az európai mézelő méhekre jellemző tulajdonságok eltűnnek (Whitfield et al., 2006; Weinstock et al. 2006; Calfee et al., 2020).

A hibridizáció természetesen Európában is veszélyt jelent az őshonos méhfajtákra. Erre egy példa az északi területekre jellemző *Apis mellifera mellifera* fekete méh, melyet a kedvezőtlen környezeti tényezőkhez való nagymértékű alkalmazkodás és a betegségekkel szembeni ellenálló képesség jellemez. A természetes élőhelyén egyre több méhész nem őshonos fajtákat telepített be és szaporított el. Emiatt az őshonos *A. m. mellifera* populációk a génáramlás miatt csaknem elvesztették identitásukat, vagy kihaltak. Emiatt az Európai Méhészek Társasága már veszélyeztetett fajként ismeri el. Megőrzésére pedig külön intézkedéseket hoztak (Jensen et al., 2004; Thunman, 2016; Ostroverkhova et al., 2018; Bieńkowska et al., 2021).

Másik európai példa lehet a Bulgáriában és Dél-Szerbiában natív (Délkelet-Európa) *Apis mellifera macedonica*. Ez az alfaj az utóbbi évtizedekben hibridizációt mutat több más fajtával, mint például az *A. m. carnica*-val, és az *A. m. mellifera*-val. A hibridizációk veszélye az, hogy idővel a honos fajták genetikai jellegzetességei és az előnyös tulajdonságaik (pl. szelídség) akár

el is veszhetnek. Görögországban is megfigyelhetjük ezt a jelenséget, ahol a vándorméhészetek és a felelőtlen méhtartás eredményeképp hibridizációs zónák alakultak ki (Bouga et al. 2005; Uzunov et al. 2016; Muñoz et al. 2020).

Európában az egyre melegebb éghajlat befolyásolhatja a mézelő méhek elterjedését, ezáltal növelve akár az „A” vonalhoz tartozó fajtákkal történő hibridizáció valószínűségét is. A természetes génáramlásnak köszönhetően Afrikai mitokondriális DNS-t hordozó méhek már napjainkban is előfordulnak Európa délnyugati és déli területein. Friss elemzések kimutatták, hogy a vizsgált közép- és kelet-európai méhek 1,64%-a már afrikai mitokondriális DNS-t is tartalmaz. A déli területek hibridizációjával ellentétben itt nem valószínű, hogy jelenlétük természetes eredetű migrációból ered, hanem inkább emberi tevékenységből. Például az eredetileg hibrid buckfast egyedek nagyobb valószínűséggel hordozhatnak afrikai méhtől származó genetikai anyagot. Ez veszélyt jelenthet a tiszta vonalak megtartására, és az európai méhállomány egészségére, hiszen hozzájárulhat a nemkívánatos tulajdonságok (pl. rajzás), élősködők (pl. kiskaptárbogár) és betegségek terjedéséhez. Emiatt több ország is lépéseket tett az afrikanizáció megjelenésének elkerülése érdekében. Ilyen például Kanada, ahol tanúsítvánnyal kell bizonyítani az importált méhanyákról, hogy nem afrikanizáltak (Oleksa et al. 2021).

Felismerve az európai populációk helyzetét, 2019 februárában Németországban intézkedések indultak egy méhekre specializálódott génbank felállítására, mely főként *A. m. mellifera* és *A. m. carnica* alfajokat fog megőrizni. Itt a krioperzervált, és minőségi kritériumoknak (pl. motilitás, egészség) megfelelt spermaminták mellett az eredeti családból 5 db felnőtt dolgozót és herét, továbbá szövetmintákat is tárolnak, a későbbi morfológiai és genetikai vizsgálatokhoz. Így a spermamintákat nem szükséges további vizsgálatok érdekében felhasználni. A cél az, hogy a veszélyeztetett populációkat újraéleszthessék, megelőzzék az esetleges beltenyésztési leromlást, továbbá lehetőséget nyújtanak arra, hogy a diverzitás megőrzése által, az állományok reagálni tudjanak a ma nehezen előrelátható kihívásokra (pl. éghajlatváltozás, paraziták) (Viert et al., 2021).

3.7 Populációgenetikai vizsgálatok

A populációgenetika az adott populációk genetikai diverzitását elemző vizsgálati módszer (Robert és Philipp 1997). A technológia fejlődésével megjelentek a PCR (Polymerase Chain Reaction), RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), AFLP (Arbitrary Fragment Length Polymorphism) és RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) módszerek,

melyeket idővel tovább fejlesztettek. Legáltalánosabb vizsgálati módszer a RAPD volt, mellyel például 1995-ben egy méhanya here utódaiból 365 RAPD marker szegregációján alapuló kapcsolati-térképet készítettek (Hunt és Page, 1995; Jain et al. 2010). A jelenleg leginkább alkalmazott módszerek közé tartoznak inszerció vagy delécio, a mikroszatellit marker, és az SNP (single nucleotide polymorphism) analízisek (Vignal et al., 2002; Paál et al. 2013; Henriques et al. 2018; Fomenko et al. 2020; Minozzi et al. 2021).

3.7.1 PCR vizsgálati módszer

A polimeráz láncreakció (PCR) során a DNS egy primer által meghatározott részéről, DNS polimeráz enzimmel másolat készül. Első lépésben a DNS két szálát magas hővel denaturálják, majd a tervezett markerek kiválasztják az amplifikálni kívánt szakaszokat, ahol mindkét szálról készül másolat. A hő csökkenésével az elvált DNS szálak ismét kialakítják hidrogénkötéseiket egymással, amivel véget ér egy PCR ciklus. Egy átlagos PCR protokoll általában 35 ciklust foglal magába, mialatt a vizsgálni kívánt DNS szakasz mennyisége 35-ször duplázódik meg. Így a polimeráz láncreakció kiváló lehetőséget nyújt kevés és/vagy rosszabb minőségű DNS-ből értékelhető vizsgálatok elvégzésére (Weaver és Hedrick, 2000).

3.7.2 Mikroszatellit marker

Kutatásunk során mi mikroszatellitokkal dolgoztunk, melyeknek több elnevezésük is van a szakirodalomban, mint például SSR (Simple Sequence Repeats), SLP (Simple Sequence Length Polymorphisms), STR (Short Tandem Repeats) és VNTR (Variable Number Tandem Repeats) (Jacob et al. 1991; Estoup et al., 1993; Panaud et al. 1996; Lunt et al., 1998; Palmer 2000).

Ez a vizsgálati módszer a teljes genomi DNS nemkódoló, 2-6 bp (bázispár) hosszú, akár 100x ismétlődő, összesen 50-500 bp hosszúságú, polimorf szakaszain alapszik (Sheppard és Smith, 2000; Fésüs et al. 2000; Selkoe és Toonen 2006). Ez egy kodomináns DNS-marker, mely pontosabb, gazdaságosabb, és a primerek közzétételével könnyebben reprodukálható, mint az RFLP- vagy RAPD-módszer (Estoup et al., 1995; Panaud et al. 1996; Lunt et al., 1998). Az allél polimorfizmust a tandem ismétlődő régió végzett PCR során kapott DNS-fragmensek bázispárokból megadott hossza jellemzi. Gyakori mutációjuk miatt ezek a lokuszok nagyszámú alléllal rendelkezhetnek, amelyek alkalmassá teszik őket populációgenetikai vizsgálatokon kívül genomtérképezésre, rokonsági kapcsolatok, származás és beltenyésztettség vizsgálatokra, honos populációk megőrzésére, továbbá fajták és törzsek közötti genetikai távolságok becslésére is (Estoup et al., 1995; DeWoody és Avise, 2000; Fésüs et al., 2000).

A repetitív szakaszok hossza alapján di-, tri-, tetranukleotid stb. elnevezést kapták, melyek a nevüknek megfelelően 2, 3, 4 nukleotidból állnak. Kutatásunk során mi di- illetve tetranukleotid STR markereket használtunk. A csoportunk által fejlesztett markerek tetranukleotidok, melyeket az alacsonyabb mutációs ráta miatt pontosabban lehet elemezni. Ezek az SSR markerek megbízhatóbbak a dinukleotidoknál, amit bizonyít, hogy igazságügyi eljárások esetén is ezeket használják. Azonban a nemhumán populációgenetikai vizsgálatokban továbbra is a dinukleotid markerek az elterjedtebbek (Estoup et al., 1993; Wictum et al. 2013; Szabolcsi et al. 2008; Szabolcsi et al. 2014).

4. Anyag és módszer

4.1 Mintagyűjtés

Vizsgálatainkhoz szükséges fedett állapotú méhfiasítás, illetve kifejlett méhanya mintákat KTV1, KTV2, KTV3, KTV4 központi teljesítményvizsgáló teleptulajdonosok, továbbá M1, M2, M3 és M4 méhanyanevelők biztosítottak számunkra, Magyarország nyugati részéről (1. melléklet).

Így összesen 8 méhészt minimum 16-16 családjától mintáztunk herefiasítást, összesen 153 darab méhcsalád került mintavételezésre. Ezek adatait az általunk készített adatbázisban rögzítettük, Biobanki (azonosító) számok szerint. A mintákat a méhészek az általunk korábban kiküldött mintavételi csomagokban található eszközökkel saját maguk, ahol pedig ez nem volt megoldható, ott a mi segítségünkkel gyűjtötték be a telephelyeken.

A mintavételezéshez hegyes csipeszt használtunk, mellyel a lárvák elérése érdekében könnyen átszúrhattuk a sejtek viaszfedelét. A mintákat jelzéssel ellátott falcon csövekbe gyűjtöttük, melyek a konzerválás érdekében Patosolv-val (84,4%-os etil- és 15,4% egyéb alkoholok keveréke, Molar Chem.) voltak feltöltve. Méhcsaládonként 25-35 db épp lefedett sejtől gyűjtött herelárvát szedtünk, melyek még nem kezdték meg átalakulásukat, vagy annak kezdetén jártak. A méhanyákat külön falcon csövekbe helyeztük, melyek később, a vizsgálat pontosságának ellenőrzésére lesznek felhasználva. Az így gyűjtött mintákat ezután -20°C -on, és -70°C -on tároltuk további felhasználásig.



3. ábra: Mintavételezés a méhészetekben
Készítette: Hegedűs Bettina

4.2 DNS izolálás

Vizsgálataink szempontjából szerencsés tulajdonság a méhek haplo-diploiditása, hiszen így csupán a herékből, a méhanya megsértése nélkül vagyunk képesek megállapítani annak teljes genotípusát. Mivel a méhanya genetikai anyagának vizsgálatához DNS poolokat használunk (mely esetünkben 25-35 hímegyed szövetét tartalmazza), így az eredeti protokollban található, a minták előkészítését leíró lépéseket szükséges volt kiegészítenünk. Az így készült protokoll optimalizálása és a validálásához szükséges vizsgálatok még folynak, mivel meg van a lehetősége, hogy még költség- és anyagkímélőbb módszert is találhatunk. Továbbá, a poolokat alkotó egyedek, és az azokhoz tartozó méhanyák genotipizálása is folyamatban van, hogy a genetikai vizsgálatok megbízhatóságát igazoljuk.

Méhanyák vizsgálata esetén a longitudinális és vertikális repülőizmokból készítettem homogenizátumot (4. ábra). Ezeket az anyából egy tárgylemezen, OLYMPUS SZX12 sztereó mikroszkóp alatt távolítottam el mikrosebészeti olló segítségével, vigyázva a tápcsatorna épségére. Így elkerültem, hogy az abban található mikrobák beszennyezzék a mintát. Ezután az izomszöveteket egy 1,5 ml-es eppendorf csőben lecentrifugáltam, majd az izoláló kit-hez tartozó 400 µl GT puffer hozzáadása után 3db 3mm-es fémgolyóval Bullet Blender Storm 24 készülékkel (Next Advance, Inc. Troy, NY) homogenizáltam, a méh here pooloknál alkalmazott beállításokkal. Az optimalizáló vizsgálatok szerint minimum 5 mg kiinduló izomszövetmennyiségre van szükség az izolálás megfelelő hatékonyságához.



4. ábra: A longitudinális és vertikális repülőizmok
Készítette: Hegedűs Bettina

A minták előkészítése után a DNS izolálást MagCore® Genomic DNA Tissue Kittel végeztük, MagCore® Automated Nucleic Acid Extractor robot (RBC Bioscience Corporaion)

segítségével, a gyártó utasításai szerint. A használt protokoll a 401-es volt, mely végén 60 µl vízbe vettük le a DNS-eket.

Jelenleg 130 család izolált DNS-ét dolgoztuk fel, melyeknek minőségét első körben NanoDrop ND-1000 spektrofotométer segítségével (Thermo fischer) ellenőriztük. Ezután a mérettartományukat agaróz gélelektroforézis segítségével állapítottuk meg, 200 ng genomiális DNS felhasználásával.

4.3 Multiplex PCR reakciók optimalizálása

Akkor beszélhetünk multiplex PCR reakcióról, ha egy reakcióterben több primer van összemérve, így egy időben és térben több egymástól független allél képződhet. Ennek az az előnye, hogy idő és költségtakarékosabb a markerenként külön-külön lefolytatott polimeráz láncreakciónál. Én a PCR vizsgálatok során összesen 17 darab, megfelelő polimorfizmussal bíró mikroszatellitet optimalizáltam két multiplex PCR reakcióban úgy, hogy alkalmasnak bizonyultak mind az egyedazonosításhoz, mind a populációgenetikai vizsgálatokhoz (1. táblázat; 2. melléklet).

Ezek közül 15 darab korábban már ismert, szakirodalomból (Estoup et al. 1994; Estoup et al. 1995.; Solignac et al. 2003; Solignac et al. 2007; Ostroverkhova et al. 2018.; Loucif-Ayad et al. 2015, Péntek-Zakar et al. 2015) adaptált, míg 2 darab a csoport által korábban fejlesztett autoszómás mikroszatellit marker volt („Apsplex1., és 2.”).

A multiplex PCR reakciókat QIAamp Multiplex PCR Kittel (QIAGEN, Németország) és VitaTaq® PCR Kit (Procomcure Biotech, Németország) végeztem a gyártó utasítása szerint. Ennek oka az volt, hogy leellenőrizzem, hogy a 2 multiplex 17 markere ugyan olyan hatékonysággal működik-e különböző enzimek esetében.

A LifeECO PCR készülékben (Hangzhou Bioer Technology, Kína), a reakciókörülmények beállításakor a gyártó által meghatározott protokollt követtem. A PCR amplifikációk sikerességét agaróz gélelektroforézis segítségével ellenőriztem, mely etídium-bromidot (EtBr) tartalmazó, 1,5%-os agaróz gélen, 100 bázispár GeneRuler molekuláris marker és 1x töménységű TBE puffer felhasználásával történt.

1. táblázat: A, QIAamp Multiplex PCR Kit (QIAGEN, Németország) esetén; B, VitaTaq® PCR Kit (Procomcure Biotech, Németország) esetén használt multiplexek. (marker források: a, Estoup et al. 1994; b, Estoup et al. 1995.; c, Solignac et al. 2003; d, Solignac et al. 2007; *publikáció alatt)

Multiplex	Marker jelölése	Kr.	Fluorescent festés
Apisplex1a	A43 ^a	1.	ATTO565
	Ap055 ^c	1.	HEX/YAKYE
	Ap066 ^d	3.	ATTO550
	A113 ^b	6.	FAM
	A24 ^b	7.	HEX/YAKYE
	A7 ^a	8.	FAM
	A88 ^b	8.	ATTO550
	A35 ^a	14.	ATTO565
	406*	16.	ATTO550
	Ap028 ^c	16.	ATTO565
Apisplex2	Ap226 ^c	1.	FAM
	Ap090 ^d	3.	ATTO565
	407*	5.	HEX/YAKYE
	A107 ^a	7.	FAM
	A7 ^a	8.	FAM
	A14 ^a	8.	ATTO565
	Ac011 ^c	9.	ATTO550
	A025 ^d	10.	HEX/YAKYE
	A35 ^a	14.	ATTO565
	406*	16.	ATTO550

Multiplex	Marker jelölése	Kr.	Fluorescent festés
Apisplex1b	A43 ^a	1.	ATTO565
	Ap055 ^c	1.	HEX/YAKYE
	Ap066 ^d	3.	ATTO550
	A113 ^b	6.	FAM
	A24 ^b	7.	HEX/YAKYE
	A88 ^b	8.	ATTO550
	Ap028 ^c	16.	ATTO565
Apisplex2	Ap226 ^c	1.	FAM
	Ap090 ^d	3.	ATTO565
	407*	5.	HEX/YAKYE
	A107 ^a	7.	FAM
	A7 ^a	8.	FAM
	A14 ^a	8.	ATTO565
	Ac011 ^c	9.	ATTO550
	A025 ^d	10.	HEX/YAKYE
	A35 ^a	14.	ATTO565
	B	406*	16.

Készítette: Hegedűs Bettina

4.4 Adatelemzés

4.4.1 Fragmentanalízis

A kutatás alatt fluoreszcensen (pl. FAM – kék; ATTO565 – piros) jelölt forward primereket használtunk a PCR amplifikációk során. Ennek oka, hogy a fragmentanalízishez szükséges detektálható jelet ez a festék adja, mivel a kapillárison áthaladó lézerfény hatására fluoreszkálni kezd. Ezt a készülék kamerája érzékelni képes, amiről elektronikus jellé alakítva, elektroferogramot készít. Ez a technika a gélelektroforézishez hasonlóan, méret szerinti elválasztásra képes. Emiatt a multiplex reakciók összeállításánál fontos szempont volt, hogy a különböző méretű és/vagy jelölésű termékek ne essenek egy tartományba, mivel úgy a detektáláskor téves jelet adhattak volna.

Kutatásunk során a fragmentanalízist a BIOMI Kft (WESSLING cégcsoport) végezte el, ABI 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems Group, USA) készülék segítségével. Az így elkészült kapilláris elektroforézis eredményeként kapott allélhosszakokat (csúcs elhelyezkedése a ferogramon) Peak Scanner version 1.0 (Applied Biosystems, USA) és a Geneious (Biomatters Inc., Új-Zéland) program segítségével olvastuk le, a kapott allélméreteket pedig Microsoft Excel táblázatban rögzítettük.

4.4.2 Populációgenetikai vizsgálatok, rokonsági kapcsolatok

A populációgenetikai vizsgálatokat GenAlEx /version 6.501/ (Peakall & Smouse 2012) és Structure (Pritchard et al. 2000) programmal végeztük, míg rokonsági kapcsolatok elemzését a Colony Version 2.0.6.5. (Wang, 2018) szoftverrel. A vizsgálatokhoz használt referenciaszett 12 db (ebből 6 db svédországi Gotlandból származó varroa-atka (*Varroa destructor*) toleráns) Buckfast hibrid, 6 db japánban tenyésztett *Apis mellifera ligustica*, 7 db Olaszországban tenyésztett *Apis mellifera ligustica*, 16 db korábbi vizsgálatok során használt, magas hibridizációt mutató magyar szett (KTV4_2019) és 5 db *Apis cerana* egyedet foglalt magába.

A GenAlEx egy igazán sokrétű program, ami diploid kodomináns, haploid, haplotípusos és bináris genetikai adatok populációgenetikai elemzését végzi el.

A Structure szoftver multilokusz genotípusadatokat (SNP-k, STR-ek stb.) használ az egyedek populációkba rendezéséhez, és megadja annak valószínűségét, hogy egy egyed egy adott alpopulációhoz tartozik-e, vagy nem.

A Colony program esetében a betáplált allélcúcsok statisztikai elemzése történik, a mendeli öröklési szabályokon alapuló módszerekkel. Így egyidejűleg következtetni lehet az egyedek közötti testvér és szülői származásra. A colony diploid és haplodiploid, egy- és kétlaki fajok

esetében is egyaránt használható; domináns és kodomináns markerekkel is működik, és képes figyelembe venni és megbecsülni az allélonkénti genotipizálási hibákat.

5. Eredmények és értékelésük

5.1 DNS izolálás

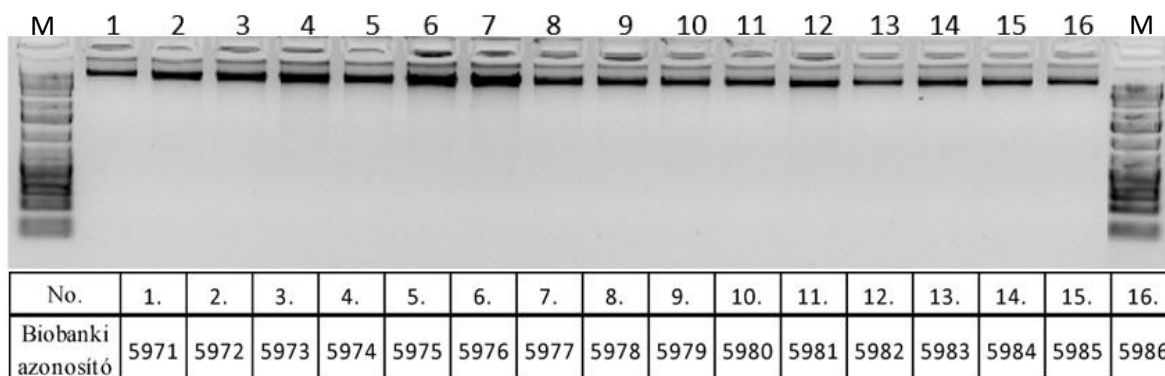
A DNS izolálás után, NanoDrop ND-1000 spektrofotométer segítségével (Thermo fischer) elvégzett mérések alapján megállapíthattuk a mintákról, hogy tiszták (a 260/280-as érték 1,5 feletti), megfelelő koncentrációjúak (minimum 15 ng/μl) és alacsony a só tartalmuk (2. táblázat).

2. táblázat: Izolált méhhere pool DNS koncentrációja és minősége

Sample_ID	ng/μl	260/280	260/230
5987	189,1	1,88	1,29
5988	203,5	1,89	1,5
5989	283,4	1,96	1,75
5990	152,5	1,79	1,17
5991	233,9	1,88	1,48

Készítette: Hegedűs Bettina

A genomiális DNS-nek az ezt követő agaróz gélelektroforézissel végzett elválasztása során láthattuk, hogy a genetikai anyag többszörös homogenizálás ellenére sem vált töredezetté (6. ábra).



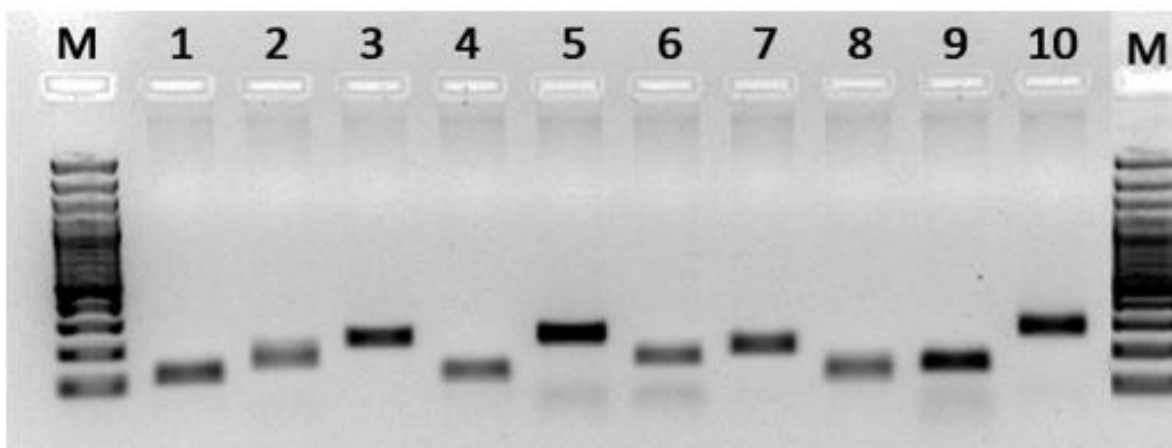
4. ábra: Genomiális DNS minőségének ellenőrzése gélelektroforézissel: 1,5%-os agarózgél, 200 ng DNS/minta. Marker (m): GeneRuler 1 kb DNA Ladder (Thermo Scientific)

Készítette: Hegedűs Bettina

5.2 PCR vizsgálatok multiplexekkel

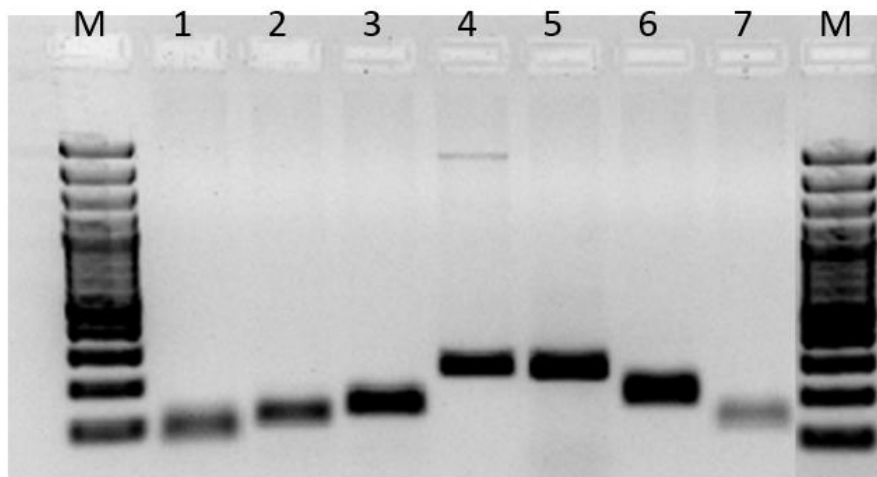
A megfelelő DNS-ek kinyerése után a következő lépés a csoport által korábban populációgenetikai vizsgálatokra létrehozott multiplexek optimalizálása volt.

A PCR vizsgálatokat a primerek működésének ellenőrzésével kezdtem, tehát mindegyiket egy külön PCR reakcióval indítottam el (5. és 6. ábra). Ezt a lépést csupán a QIAamp Multiplex PCR Kittel (QIAGEN, Németország) végeztem el, mivel biztos voltam benne, hogy az egyedi reakciók enzimtől függetlenül azonos eredményt fognak hozni.



5. ábra: *Apisplex1* és 2. markerekre bontva (A7, A88, A113, A24, Ap028, A43, Ap055, Ap066, A35, 406), QIAamp Multiplex PCR Kit használatával, Marker (m): GeneRuler 100 bp DNA Ladder (Thermo Scientific)

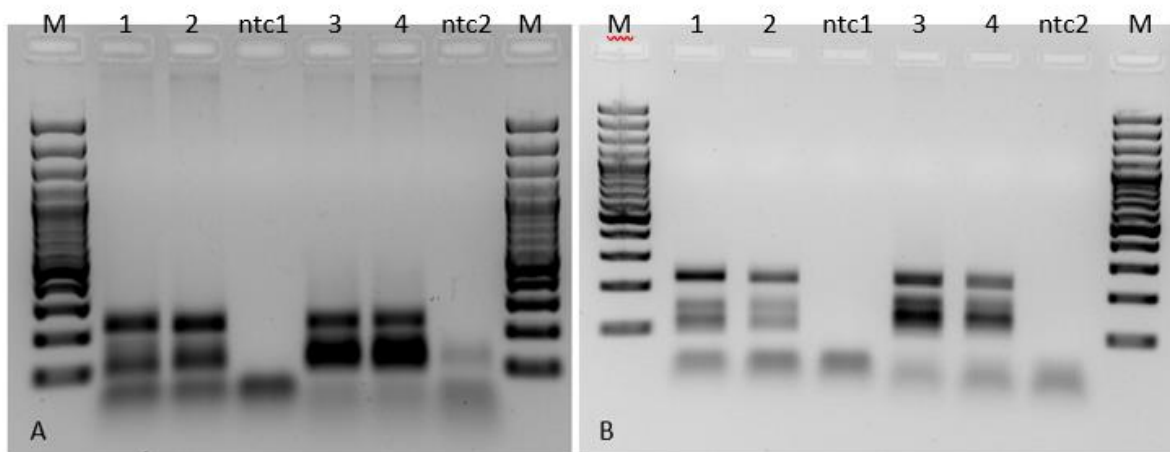
Készítette: Hegedűs Bettina



6. ábra: *Apisplex1* és 2. markerekre bontva (A025, Ac011, Ap090, Ap226, A14, A107, 407), QIAamp Multiplex PCR Kit használatával, Marker (m): GeneRuler 100 bp DNA Ladder (Thermo Scientific).

Készítette: Hegedűs Bettina

A mikroszatellit markerek ellenőrzése után a következő lépés ezek multiplex környezetbe illesztése, és a fragmentanalízis eredményei alapján történő optimalizálása volt. Elsőként a QIAamp Multiplex PCR Kittel (QIAGEN, Németország) végeztem ezt el (7. ábra).

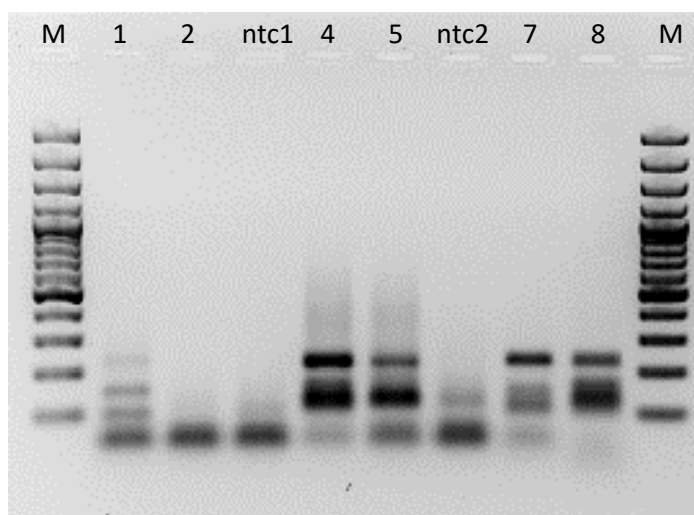


7. ábra: Multiplexek (QIAamp Multiplex PCR Kit) szétválasztása agaróz gélelektroforézissel: 1,5%-os gél, Marker (m): GeneRuler 100 bp DNA Ladder (Thermo Scientific) használatával. 1-ntc1: Apisplex1. 3-ntc2: Apisplex3.

Készítette: Hegedűs Bettina

Ekkor a 2 plexben 3 azonos STR marker volt található: A7, A35, és 406. Ennek oka az volt, hogy ezek a markerek korábbi használatuk esetén instabilnak bizonyultak multiplexekben, tehát nem minden esetben hoztak értékelhető eredményt a további vizsgálatokhoz.

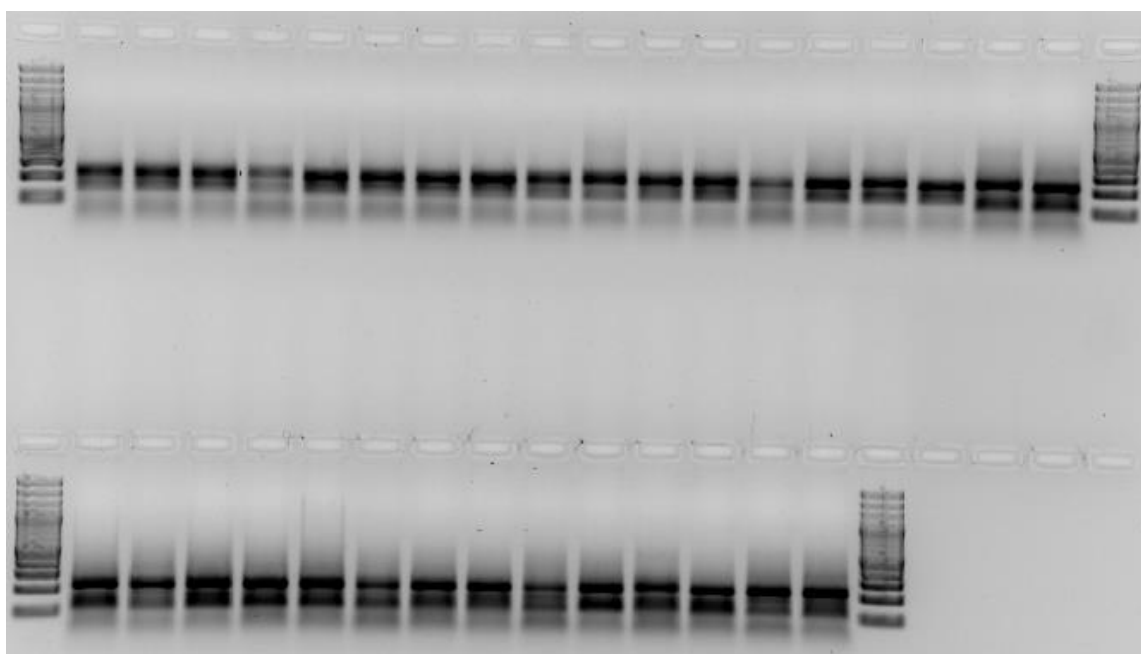
Ez ismét bebizonyosodott a VitaTaq® PCR Kit (Procomcure Biotech, Németország) optimalizálása során, az Apisplex1 esetén. Ekkor, bár az Apisplex2 a QIAamp Multiplex beállításai alapján működött, és fragmentanalízis során értékelhető eredményeket hozott, az első multiplex nem (8. ábra).



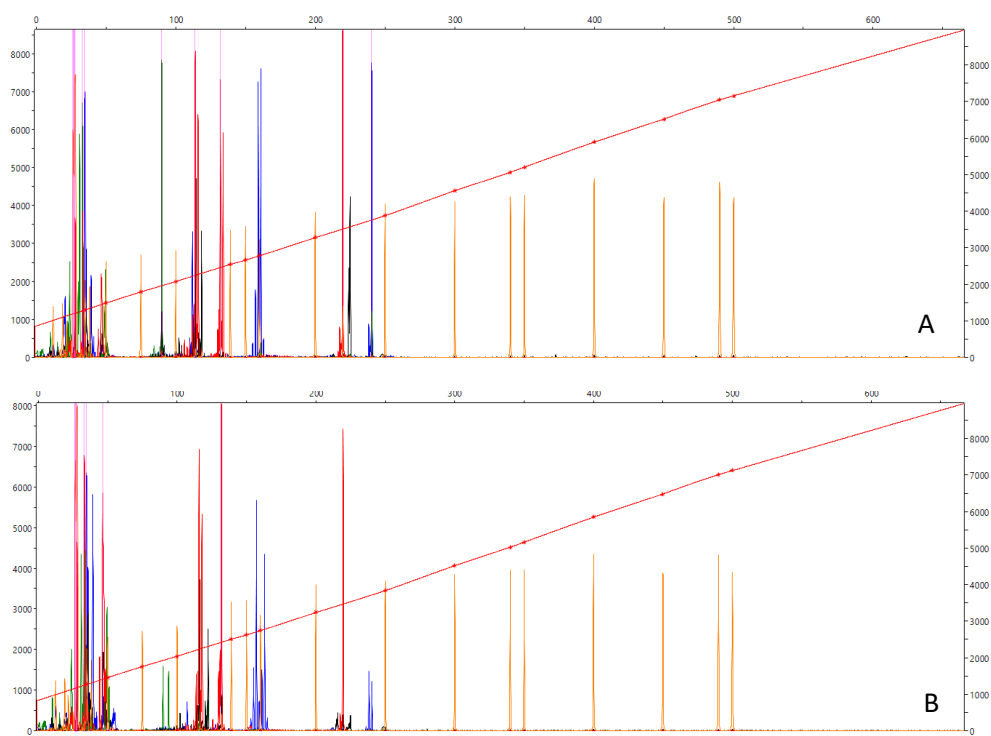
8. ábra: Multiplexek (VitaTaq® PCR Kit) optimalizálásának ellenőrzése agaróz gélelektroforézissel: 1,5%-os gél, Marker (m): Generuler 100 bp DNA Ladder (Thermo Scientific) használatával. Az ntc2-ben valószínűsíthető átfolyás található.

Végül az Apisplex1 multiplexből eltávolítottam az Apisplex2-vel egyező markereket, dupláztam a végtérfogatot (40 μ l) és emeltem a primerek mennyiségét. Ezután a lépés után, az első multiplexszel végzett reakciók is megfelelő fragmenteket eredményeztek. Viszont mivel a három STR marker külön multiplexben is működött, így szükség esetén azok is használhatóak voltak.

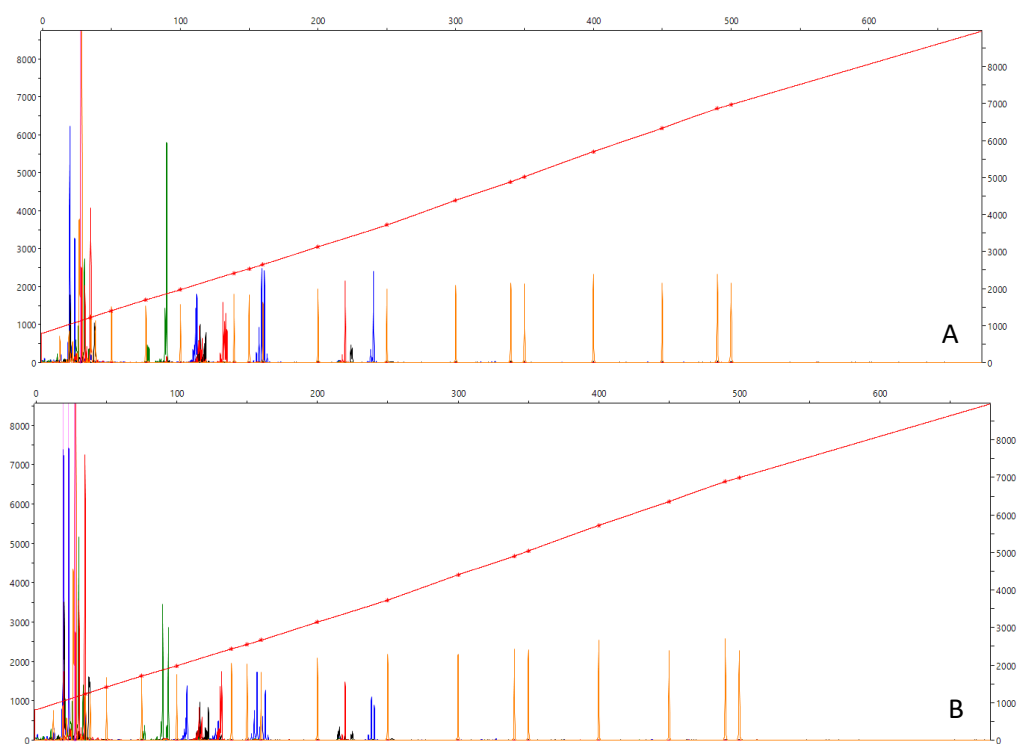
A fragmentanalízis eredményei alapján megállapítottuk, hogy az így beállított paraméterekkel mindkét multiplex PCR kit használható az Apisplex1 és Apisplex2 esetén (9., 10., 11. ábra). A fragmentanalízisből nyert adatok alapján meg tudtuk állapítani az egyes allélhosszakát, amiket felhasználtunk a populációgenetikai és rokonsági vizsgálatainkhoz.



9. ábra: Az optimalizált Apisplex1. és 2. multiplex PCR-ek gélképe. 1,5%-os agarózgél, GeneRuler 100 bp plus DNA Ladder molekulasúly marker.



10. ábra: A multiplex optimalizálása előtti elektroferogram Peak Scanner version 1.0 (Applied Biosystems, USA). A, *Apis mellifera Carrina Pannonica*; B, Buckfast hibrid



11. ábra: A multiplex optimalizálása utáni elektroferogram Peak Scanner version 1.0 (Applied Biosystems, USA). A, *Apis mellifera Carrina Pannonica*; B, Buckfast hibrid

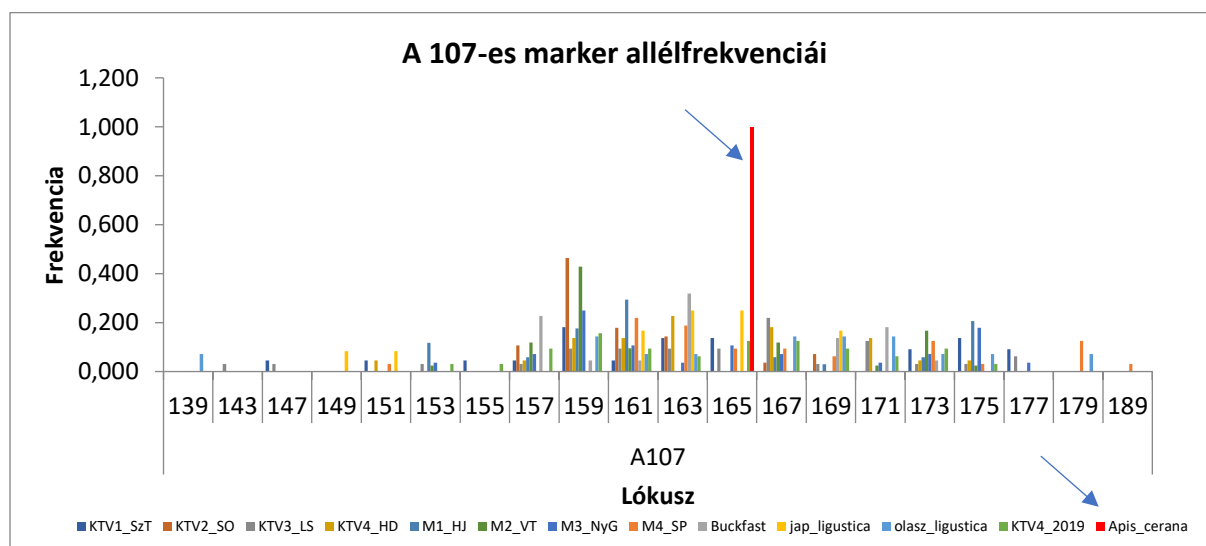
5.3 Bioinformatikai analízisek

5.3.1 Genetikai diverzitás a pannon méhek vizsgált populációiban

A kutatás során használt 17 mikroszatellit marker alléltartománya, az allélok gyakorisága, heterozigotizálásuk és az egyedek genetikai távolsága is megállapításra került.

A vizsgált STR lókuszok variabilitása eltérő volt a magyar pannon méhpopulációkban. A legkevesebb allélszám (1 db) volt az Ap066-os (KTV2_SO; M1_HJ), A7-es (M2_VT) és 406-os (KTV2_SO, M2_VT) markerek esetén, a legtöbb pedig az A107-as marker esetén volt megfigyelhető (14 allél, a KTV3_LS populációban). A markerek egy részénél egyértelműen meg tudtam állapítani egy domináns allélt, mint például az A14 lókusz esetén a 218-as (>50%-os előfordulás), 406-osnál a 222-es (>64%), 407-esnél a 90 hosszúságú (>50%), A43-nál a 141 (>68%), az Ap066 esetén a 92-es hosszúságú allél (>82%) és az A113-as lókusz 212-es allélja (>61%).

Bár a legnagyobb polimorfizmust a 107-es marker mutatja (12. ábra), némely lókusz szintén viszonylag nagymértékű varianciával bír az allélhosszakat illetően. Ilyen például az Ac011, A025, A7, Ap055 is. A kapott eredményekből láthatjuk, hogy a lókuszok nagy részénél azonos allélok voltak dominánsak a populációkban (3. melléklet). Ezenkívül több esetben is megfigyelhetjük az *Apis cerana* alléljainak látványos elkülönülését az európai méhekétől (olasz, pannon, Buckfast hibrid) (12. ábra; 3. melléklet).



12. ábra: Az A107-es lókusz allélfrekvenciáinak ábrázolása a magyar és a referencia populációban /GenAlex Version 6.503 (Peakall & Smouse 2012)/

A vizsgálat során használt markerek megfigyelt és a várt heterozigotitása között nincs jelentős különbség (3. táblázat). A legtöbb lokusz esetében, a populációkban megfigyelt heterozigotitás alacsonyabb, illetve magasabb értékeket is felvett a várthoz képest. Erre lehetséges magyarázattal szolgálnak a méhek szaporodásbiológiai jellemzői.

3. táblázat: A várt, illetve megfigyelt allél heterozigotitás a teljes magyar méhállományban (GenAlex Peakall & Smouse 2012)

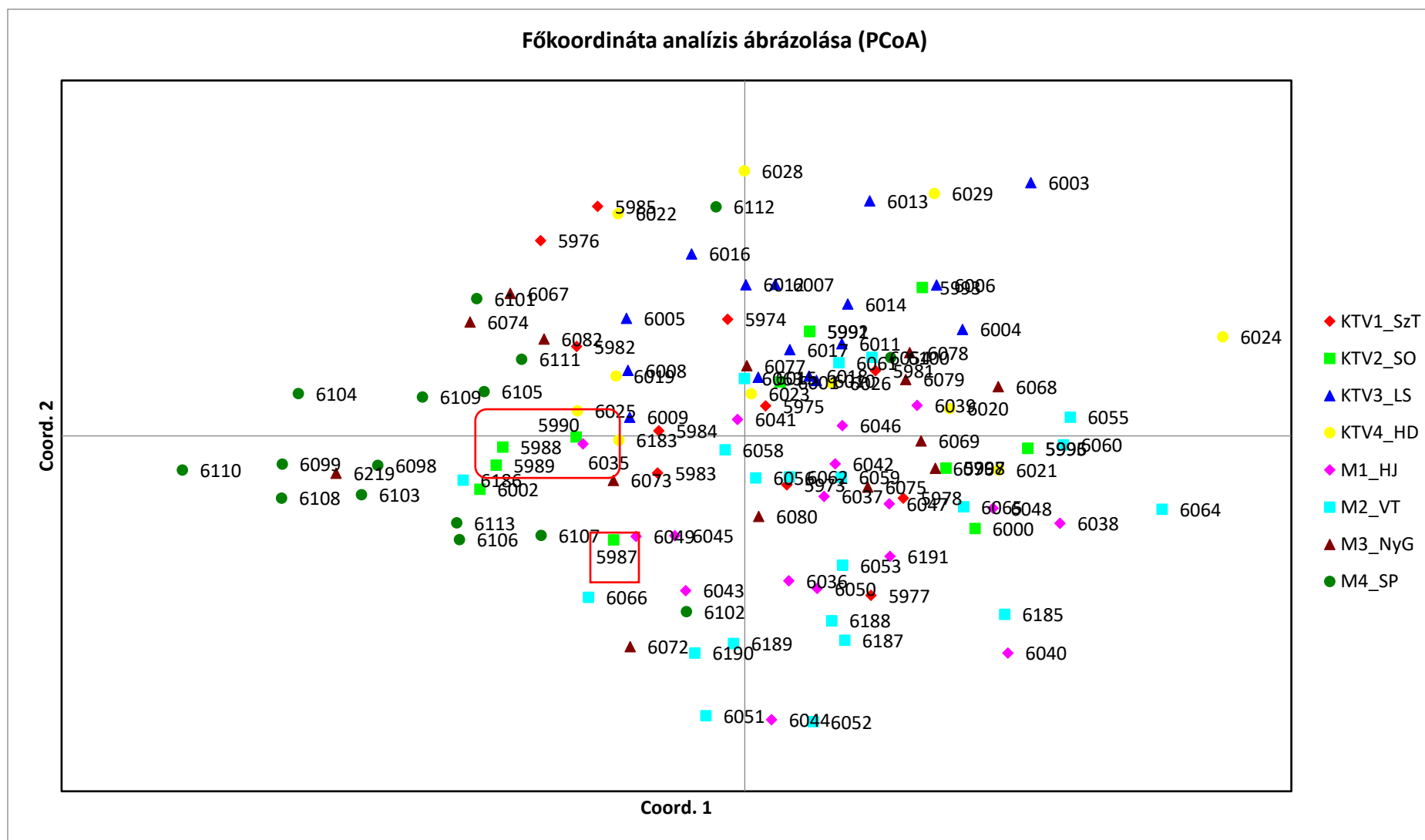
(Ht: teljes várt heterozigotitás; He: várt heterozigotitás; Ho: megfigyelt heterozigotitás)

	A113	A24	Ap055	Ap066	A88	A43	Ap028	A7	A107	Ap226	A025	407	Ac011	406	A35	Ap090	A14
Ht	0,509	0,598	0,749	0,091	0,582	0,391	0,503	0,582	0,889	0,565	0,740	0,493	0,748	0,304	0,553	0,687	0,443
Mean He	0,476	0,504	0,704	0,086	0,550	0,381	0,486	0,511	0,829	0,499	0,590	0,479	0,701	0,278	0,493	0,634	0,399
Mean Ho	0,463	0,444	0,806	0,061	0,598	0,474	0,471	0,523	0,924	0,422	0,440	0,481	0,806	0,262	0,609	0,677	0,359

A főkoordináta analízisből (PCoA) láthatjuk (13. ábra), hogy a több méhanyanevelő egyedeit tartó KTV telepek (KTV1-KTV4) nem különböztethetők meg külön populációként pusztán az ott nevelt anyák genetikai távolsága alapján. Azonban azokat a méhanyanevelő telepeket, melyek csupán a saját állományukat foglalják magukba, többnyire sikerült elkülönítenem egymástól. Ezt megfigyelhetjük a PCoA ábrán, hiszen M4_SP mintái szinte teljesen különállnak a populáció szélén, míg M1_HJ és M2_VT egymással bár keveredve, de szinte külön vehető csoportot alkot az ábra alján. A genetikai diverzitás eredménye és az az alapján készült PCoA ábrája itt alátámasztotta a két méhészt (M1_HJ és M2_VT) többszöri, a beltenyésztettség elkerülése miatt történt méhanyacseréjét. Állományuk genetikai távolsága a vizsgált populációk közül a legalacsonyabb (0,051), míg azonossága a legmagasabb (0,950) annak ellenére, hogy telepeik messze vannak egymástól (4. táblázat; 4. melléklet, 13. ábra).

A legnagyobb genetikai távolság (0,172) M1_HJ és M4_SP állománya esetén lépett fel, ami a két telephely közti nagy földrajzi távolság miatt nem meglepő eredmény. A PCoA ábrán a negyedik méhészt egyedeinek elkülönülését figyelhetjük meg, amit a 4. táblázatban található adatok megmagyaráznak, hiszen ennek a populációnak van a legnagyobb genetikai távolsága és legkisebb azonossága a többi csoporttal (4. táblázat; 13. ábra).

Az 5. mellékletben továbbá láthatjuk a 8 vizsgált magyar populációt, és a referenciaként használt 5 másik csoport főkoordináta analízisét. Ezen megfigyelhetjük, hogy az ázsiai méh genetikailag elkülönül mai *Apis mellifera* alfajoktól és hibridektől, ezenkívül a japánban tenyésztett *Apis mellifera ligustica*, és az olaszországi egyedek genetikai távolsága is kimutatható volt. Továbbá szembetűnő a Buckfast hibridek olasz, illetve krajnai csoportokhoz történő közeli kapcsolata is, ami figyelembe véve a hibrid eredetét, természetes jelenség.



13. ábra: Az egyedek genetikai távolsága a vizsgált magyar *Apis mellifera carnica pannonica* egyedek között. /GenAlex Version 6.503 (Peakall & Smouse 2012)/

4. táblázat: Genetikai diverzitás vizsgálat eredménye /NeiP/ /GenAlex Version 6.503 (Peakall & Smouse 2012)/)

A Nei genetikai távolság populációs mátrixa								
KTV1_SzT	KTV2_SO	KTV3_LS	KTV4_HD	M1_HJ	M2_VT	M3_NyG	M4_SP	
0,000								KTV1_SzT
0,111	0,000							KTV2_SO
0,115	0,088	0,000						KTV3_LS
0,072	0,109	0,070	0,000					KTV4_HD
0,139	0,101	0,131	0,138	0,000				M1_HJ
0,100	0,069	0,113	0,108	0,051	0,000			M2_VT
0,105	0,099	0,130	0,111	0,125	0,108	0,000		M3_NyG
0,145	0,156	0,170	0,168	0,172	0,167	0,147	0,000	M4_SP
A Nei genetikai azonosság populációs mátrixa								
KTV1_SzT	KTV2_SO	KTV3_LS	KTV4_HD	M1_HJ	M2_VT	M3_NyG	M4_SP	
1,000								KTV1_SzT
0,895	1,000							KTV2_SO
0,891	0,916	1,000						KTV3_LS
0,930	0,897	0,932	1,000					KTV4_HD
0,870	0,904	0,877	0,871	1,000				M1_HJ
0,905	0,933	0,893	0,898	0,950	1,000			M2_VT
0,901	0,906	0,878	0,895	0,883	0,897	1,000		M3_NyG
0,865	0,856	0,843	0,846	0,842	0,846	0,864	1,000	M4_SP

5.3.2 Rokonsági vizsgálatok

Az 1. mellékletben olvashatóak a vizsgált minták kaptárazonosítói, melyek legtöbb esetben információt tartalmaznak a méhcsaládok anyáinak rokoni kapcsolatáról. Az elvégzett vizsgálat eredményeiből elmondhatom, hogy az ezek alapján az információk alapján várt rokonok ennek megfelelően, magas arányban testvérek, illetve féltestvérek szintjén jelentek meg.

A GenAlEx (Peakall & Smouse 2012) program PCoA ábrája is megerősíti a colony szofver által detektált családok genetikai közelségét. Például a 13. ábrán az 5987-es egyed távolabb áll a család másik három tagja által alkotta csoporttól (5988, 5989, 5990), mialatt a rokonsági vizsgálatnál láthatjuk, hogy ez a minta kisebb valószínűséggel áll rokoni kapcsolatban velük, mint a család többi tagja egymással.

Továbbá megfigyelhetjük, hogy a már főkoordináta analízis során kis genetikai távolsággal bíró, de más-más méhészhez tartozó populációk esetén is ki tudtam mutatni valószínűsíthető rokoni kapcsolatokat (5. táblázat; 13. ábra).

5. táblázat: A rokonsági vizsgálat eredményei, a Biobankban található adatokkal /Colony Version 2.0.6.5. (Wang, 2018)/

Biobank_ID	Kaptár azonosító	Telephely jelölése	Testvéri kapcsolatok valószínűsége (FullSibDyad&Probability)			
5987	438/2	KTV2_SO	offspr.1	offspr.2	Prob.	
5988	438/5	KTV2_SO	5988	5989	1.000	
5989	438/7	KTV2_SO	5988	5990	1.000	
5990	438/8	KTV2_SO	5989	5990	0.999	
5991	144/1	KTV2_SO	5987	5988	0.994	
5992	144/4	KTV2_SO	5987	5990	0.985	
5993	144/5	KTV2_SO	5987	5989	0.983	
5995	272/3	KTV2_SO	5991	5992	1.000	
5996	272/4	KTV2_SO	5991	5993	1.000	
5997	272/8	KTV2_SO	5992	5993	1.000	
5998	272/10	KTV2_SO	5995	5997	0.999	
6039	K38/83	M1_HJ	5995	5998	0.999	
6041	K37/83	M1_HJ	5996	5997	0.999	
6042	K36/83	M1_HJ	5996	5998	0.999	
			5997	5998	0.999	
			6039	6041	0.985	
			6041	6042	0.964	
			6039	6042	0.745	

Legvalószínűbb családok (BestML FullSibFamily)						
FullSibshipIndex	Prob(inc)	Prob(exc)	Member1	Member2	Member3	Member4
	0.9911	0.9911	5987	5988	5989	5990
13	0.9999	0.9999	5991	5992	5993	
14	0.9999	0.7871	5995	5996	5997	5998
48	0.9818	0.7369	6039	6041	6042	

6. táblázat: A rokonsági vizsgálat eredményei (telephelyek közti rokoni kapcsolatok), alátámasztva a Biobankban található adatokkal /Colony Version 2.0.6.5. (Wang, 2018)/

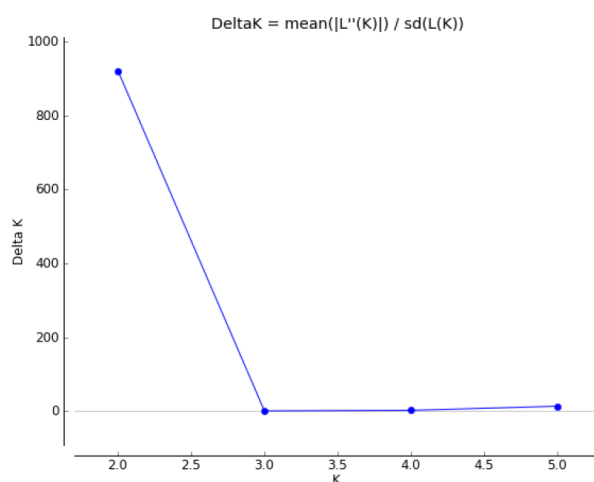
Biobank_ID	Kaptár azonosító	Telephely jelölése	Testvéri kapcsolatok valószínűsége (FullSibDyad&Probability)			
			offspr.1	offspr.2	Prob.	
6050	K14/84	M1_HJ	6050	6056	0.632	
6056	10	M2_VT	6050	6062	0.600	
6062	70	M2_VT	6056	6062	0.557	
6044	K56/64	M1_HJ	6052	6188	0.983	
6052	61	M2_VT	6044	6052	0.875	
6188	73	M2_VT	6044	6188	0.526	
Legvalószínűbb családok (BestML FullSibFamily)						
FullSibshipIndex	Prob(inc)	Prob(exc)	Member1	Member2	Member3	Member4
57	0.8419	0.8417	6050	6056	6062	
51	0.9355	0.3476	6044	6052	6188	

A Best(ML) full-sib family táblázat a legnagyobb valószínűség szerinti családokat sorolja fel. Itt az első oszlop a család indexszámát tartalmazza. A 2. oszlopban az inclusive probability (Inc.Prob.), azaz a teljes valószínűség szerepel, ami megmutatja, hogy a program által talált édestestvérből álló családok (Member1-től sorolva), milyen eséllyel oszthatóak fel több részre. Tehát minél kisebb ez a szám, annál nagyobb az esélye, hogy egy család igazából 2 vagy több kisebb családra is felosztható lenne. Ezért a legjobb fullsib családok Inc.Prob. értéke 1,0.

A 3. oszlop annak a valószínűségét adja meg, hogy egy adott fullsib családban lévő egyedek (Member1-től sorolva) egymással testvérek, mialatt a populációból más egyed nem áll rokoni kapcsolatban ezzel a családdal. Ezért ez az exclusive probability Prob(Exc.), azaz a kizárólagos valószínűség, ami mindig kisebb vagy egyenlő, mint ugyanannak a családnak a Prob(Inc.) értéke.

A Prob(Inc.) és a Prob(Exc.) összehasonlítása segít rávilágítani a lehetséges testvéri kapcsolatok szerkezetére. Ha egy testvérpárnak magas a Prob(Inc.), de alacsony a Prob(Exc.) értéke, akkor ez azt jelenti, hogy a testvérpárok felvázolt kapcsolata valószínűleg helyes, de nem tökéletes (a család több részre osztható). Ezt megfigyelhetjük a 6044, 6052 és 6188-as Biobanki azonosítóval ellátott egyedek esetén, akik 93,55%-os valószínűséggel alkotnak egy családot, viszont a Prob(exc) szintje 34,76%, így arra következtethetünk, hogy a család tagjai más egyedekkel is valamilyen testvéri kapcsolatban állnak (például esetünkben a 6052 és 6066 egyedek 53,1%, a 6188 és 6190 egyedek pedig 33,1% valószínűséggel féltestvérek).

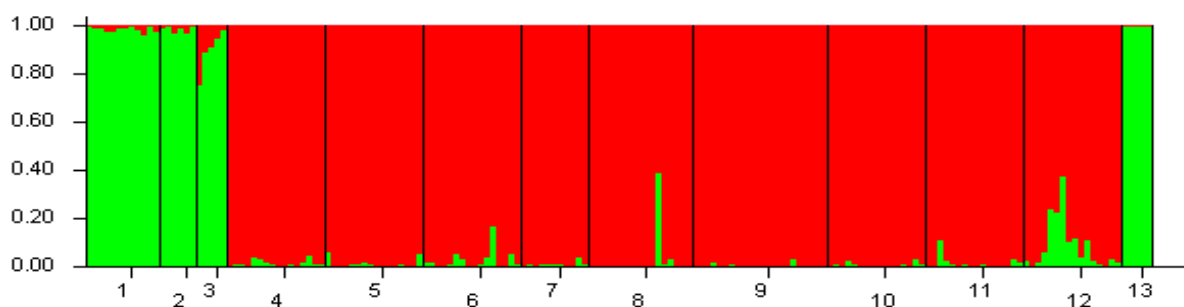
5.3.3 Populációgenetikai vizsgálat, hibridizáció mértéke



14. ábra: A genetikai klaszterek számának azonosítása 17 mikroszatellit esetén (Structure Harvester)

A vizsgált méhpopulációk genetikai szerkezetének meghatározására a Structure (Pritchard et al. 2000) programot használtam. A programot $K=6$ értékekre futtattam, mindent 7-szer ismételve. Miután a program végzett, Structure Harvester szoftver segítségével kaptam meg a ΔK legmagasabb értékét, ami esetünkben két populációt feltételező modell beállításakor jelentkezett (14. ábra).

A piros színnel jelölt klaszterbe tartoznak az *Apis mellifera carnica pannonica* genotípussal rendelkezők, míg a zöld színnel jelölt csoport tartalmazza a referenciaként használt Buckfast hibrid (1. populáció), Japánban tenyésztett *Apis mellifera ligustica* (2. populáció); Olaszországból származó *Apis mellifera ligustica* (3. populáció), és *Apis cerana* (13. populáció) egyedeket. A program $\Delta K=2$ -nél nem sorolta külön populációba a buckfaston belüli gotlandi egyedeket, mivel nem volt köztük elég genetikai variancia. A 12. populáció egy korábbi kutatásból származó, erősebb hibridizációval bíró mintaszett, amit kontrollként használtunk a vizsgálat közben (15. ábra).



15. ábra: Genetikai klaszterek a vizsgált populációban (4-11. populáció KTV1-M4)

Ha megfigyeljük, csupán egy herefiasítás adott kiugró, 30% fölötti hibridizációs eredményt (6. melléklet). Ebből az elemzésből azonban nem derült ki, hogy a második klaszter populációi közül pontosan melyiket észlelte a szoftver. A 10 %-os határértéket három herepool DNS-e érte el, továbbá összesen 8 család érintette az 5%-os határértéket. Ezeket az egyedeket (családokat) nem ajánlanánk tenyésztési programok számára, mivel genetikailag leronthatja az állományokat.

6. Összefoglalás

Felismerve a növények beporzásában és a gazdaság egyéb területén nyújtott teljesítményüket, az ember évezredek óta az őshonos és a betelepített méhpopulációkra támaszkodik. Ezek közül az *Apis mellifera* mézelő méh bizonyult az egyik legalkalmazkodóbbnak, és termelés tekintetében a leghasznosabbnak. Ez a faj rengeteg alfajjal és azokon belül fajtákkal rendelkezik, melyek az adott terület körülményeihez alkalmazkodva változtak az idő folyamán. A legelterjedtebb alfajok közé tartozik az *Apis mellifera carnica* és az *Apis mellifera ligustica*, melyek gazdasági jelentőségük miatt elég népszerűek a méhésztársadalomban. Magyarországon a honos populáció értékét felismerve, hivatalosan az *Apis mellifera carnica pannonica* fajtával, azaz a pannon méhvel lehet kereskedni, ezzel is védve a magyar állományt a külföldről behurcolt egyéb méhfajtáktól. Más fajták veszélyeztetettségéből példát véve a tiszta pannon vonalak fenntartása különösen fontos feladat országunkban, ezért különböző vizsgálatokat végeznek országszerte a fajtatisztaság ellenőrzésének érdekében.

A dolgozatban 25-35 lefedett, de ki nem fejlett haploid herefiasításból (hím), a csoport által fejlesztett, és a szakirodalomból adaptált összesen 17 db STR markerből álló 2 db multiplex segítségével határoztuk meg a pannon méhanyak genotípusát. Összesen 4 KTV (központi teljesítményvizsgáló) telep és 4 méhanyanevelő családjainak fajtatisztaságát vizsgáltam, melyek közül a populációgenetikai vizsgálatok alapján 8 családot nem ajánlottunk további tenyésztésre. Ennek oka, hogy a hibridizációs értékük elérte az 5%-ot, ami már befolyásolhatja a fajtatiszta vonal fenntartását.

Markerszettünk továbbá használható volt genetikai diverzitás, távolság, és rokoni kapcsolatok becslésére is, mivel ezeknek a bioinformatikai vizsgálatokkal kapott eredménye megfelelt a birtokunkban lévő tenyésztési adatokkal.

7. Irodalomjegyzék

- Alburaki, M., Bertrand, B., Legout, H., Moulin, S., Alburaki, A., Sheppard, W. S., Garnery, L. (2013): A fifth major genetic group among honeybees revealed in Syria. *BMC genetics*, 14, 117. doi: 10.1186/1471-2156-14-117
- Beekman, M., Allsopp, M. H., Wossler, T. C., Oldroyd, B. P. (2008). Factors affecting the dynamics of the honeybee (*Apis mellifera*) hybrid zone of South Africa. *Heredity*, 100(1), 13–18. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6801058>
- Beye, M., Hunt, G. J., Page, R. E., Fondrk, M. K., Grohmann, L., Moritz, R. F. A. (1999). Unusually High Recombination Rate Detected in the Sex Locus Region of the Honey Bee (*Apis mellifera*). *Genetics*, 153(4), 1701.
- Bieńkowska, M., Splitt, A., Węgrzynowicz, P., Maciorowski, R. (2021). The Buzz Changes within Time: Native *Apis mellifera mellifera* Honeybee Subspecies Less and Less Popular among Polish Beekeepers Since 1980. *Agriculture*, 11(7), 652. <https://doi.org/10.3390/agriculture11070652>
- Bouga, M., Harizanis, P. C., Kiliass, G., Alahiotis, S. (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
- Calfee, E., Agra, M. N., Palacio, M. A., Ramírez, S. R., Coop, G. (2020). Selection and hybridization shaped the rapid spread of African honey bee ancestry in the Americas. *PLOS Genetics*, 16(10), e1009038. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1009038>
- Chauzat M-P., Cauquil L., Roy L., Franco S., Hendrikx P., Ribière-Chabert M. (2013): Demographics of the European apicultural industry. *PLoS ONE*, 8:11. e79018 doi: 10.1371/journal.pone.0079018
- Coroian, C. O., Muñoz, I., Schlüns, E. A., Paniti-Teleky, O. R., Erler, S., Furdui, E. M., Mărghițaș, L. A., Dezmirean, D. S., Schlüns, H., de la Rúa, P., & Moritz, R. F. A. (2014). Climate rather than geography separates two European honeybee subspecies. *Molecular Ecology*, 23(9), 2353–2361. <https://doi.org/10.1111/mec.12731>
- Estoup, A., Solignac, M., Cornuet, J.-M. (1994). Precise assessment of the number of patriline and of genetic relatedness in honeybee colonies. *Proceedings of The Royal Society B: Biological Sciences*, 258, 1–7. <https://doi.org/10.1098/rspb.1994.0133>

- Estoup, A., Garnery, L., Solignac, M., Cornuet, J. M. (1995): Microsatellite variation in honey bee (*Apis mellifera* L.) populations: hierarchical genetic structure and test of the infinite allele and stepwise mutation models. *Genetics*, 140(2), 679–695.
- Estoup, A., Solignac, M., Harry, M., Cornuet, J.-M. (1993). Characterization of (GT)_n and (CT)_n microsatellites in two insect species: *Apis mellifera* and *Bombus terrestris*. *Nucleic Acids Research*, 21(6), 1427–1431. <https://doi.org/10.1093/nar/21.6.1427>
- Faluba Z. (1983): Méhek, méhészkedés. Mezőgazdasági Kiadó. Budapest. 175 p.
- Fésüs, L., Komlósi I., Varga, L., Zsolnai, A. (2000): Molekuláris genetikai módszerek alkalmazása az állattenyésztésben. Agroinform kiadó és Nyomda Kft., Budapest. 190 p.
- Fomenko O. Yu., Fornara M.S., Dotsev A.V. (2020). Polymorphic STR markers as a tool for population-genetic studies of *Apis mellifera* honeybees (review). *Agricultural Biology*. 55(6), 1090–1106. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2020.6.1090eng>
- Franck, P., Garnery, L., Celebrano, G., Solignac, M., Cornuet, J. M. (2000): Hybrid origins of honeybees from Italy (*Apis mellifera ligustica*) and Sicily (*A. m. sicula*). *Molecular Ecology*, 9(7): 907-921.
- Gallai N., Salles J-M., Settele J., Vaissière B. E. (2009): Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological Economics*, 68:810-821. doi: 10.1016/j.ecolecon.2008.06.014
- Garnery L, Solignac M, Celebrano G, Cornuet JM: A simple test using restricted pcr-amplified mitochondrial-DNA to study the genetic structure of *Apis mellifera* L. *Experientia* 1993, 49(11):1016–1021.
- Gupta, R. K. (2014). Taxonomy and distribution of different honeybee species. In *Beekeeping for poverty alleviation and livelihood security* (pp. 63-103). Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-017-9199-1_2
- Henriques, D., Parejo, M., Vignal, A., Wragg, D., Wallberg, A., Webster, M. T., Pinto, M. A. (2018). Developing reduced SNP assays from whole-genome sequence data to estimate introgression in an organism with complex genetic patterns, the Iberian honeybee (*Apis mellifera iberiensis*). *Evolutionary Applications*, 11(8), 1270–1282. <https://doi.org/10.1111/eva.12623>
- Horváth, J., Szalai, T., Szalainé, M. E. 2013. Hazai pannon méhünk I. *Méhészet*. 2013.4.

- Hunt, G. J., Page, R. E. (1995). Linkage map of the honey bee, *Apis mellifera*, based on RAPD markers. *Genetics*, 139(3), 1371–1382.
- Ingram, M., Nabhan, G.P., Buchmann, S.L. 1996: Our Forgotten Pollinators: Protecting the Birds and Bees. Global Pesticide Campaigner, Vol. 6. Number 4. PANNA, San Francisco, CA.
- Jacob, H. J., Lindpaintner, K., Lincoln, S. E., Kusumi, K., Bunker, R. K., Mao, Y. P., ... Lander, E. S. (1991). Genetic mapping of a gene causing hypertension in the stroke-prone spontaneously hypertensive rat. *Cell*, 67(1), 213–224.
- Jain, S. K., Neekhara, B., Pandey, D., Jain, K. (2010). RAPD marker system in insect study: A review. *INDIAN J BIOTECHNOL*, 6.
- Jensen, A. B., Palmer, K. A., Boomsma, J. J., Pedersen, B. V. (2004). Varying degrees of *Apis mellifera ligustica* introgression in protected populations of the black honeybee, *Apis mellifera mellifera*, in northwest Europe: Introgression in northwest european black honeybees. *Molecular Ecology*, 14(1), 93–106. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2004.02399.x>
- Klein A. M., Vaissière B. E., Cane J. H., Steffan-Dewenter I., Cunningham S. A., Kremen C., Tscharntke T. (2007): Importance of pollinators in changing landscape for world crops. *Proceedings of the Royal Society B*, 274:303–313. doi: 10.1098/rspb.2006.3721
- Kotthoff, U., Wappler, T., Engel, M. S. (2013). Greater past disparity and diversity hints at ancient migrations of European honey bee lineages into Africa and Asia. *Journal of Biogeography*, 40(10), 1832–1838. <https://doi.org/10.1111/jbi.12151>
- Lunt, D. H., Whipple, L. E., Hyman, B. C. (1998). Mitochondrial DNA variable number tandem repeats (VNTRs): Utility and problems in molecular ecology. *Molecular Ecology*, 7(11), 1441–1455. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.1998.00495.x>
- MAREEC (Mid-Atlantic Apiculture Research and Extension Consortium). (2004): Beekeeping Basics. The Pennsylvania State University, 20 p.
- Meixner, M. D., Pinto, M. A., Bouga, M., Kryger, P., Ivanova, E., Fuchs, S. (2013). Standard methods for characterising subspecies and ecotypes of *Apis mellifera*. *Journal of Apicultural Research*, 52(4), 1–28. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.52.4.05>
- Minozzi, G., Lazzari, B., De Iorio, M. G., Costa, C., Carpana, E., Crepaldi, P., Rizzi, R., Facchini, E., Gandini, G., Stella, A., Pagnacco, G. (2021). Whole-Genome Sequence

- Analysis of Italian Honeybees (*Apis mellifera*). *Animals*, 11(5), 1311.
<https://doi.org/10.3390/ani11051311>
- Muñoz I., De la Rúa, P. (2020): Wide genetic diversity in Old World honey bees threaten by introgression. *Apidologie*. 52(11):1-18. doi:10.1007/s13592-020-00810-0.
- Oleksa, A., Kusza, S., Tofilski, A. (2021). Mitochondrial DNA Suggests the Introduction of Honeybees of African Ancestry to East-Central Europe. *Insects*, 12(5), 410.
<https://doi.org/10.3390/insects12050410>
- Oravecz T., Mucha L., Illés Cs. (2020): A magyar méhészeti ágazat elmúlt 20 éve – Termelési alapok. *Gazdálkodás*, 64(5):435-451. doi: 10.22004/ag.econ.305812
- Ostroverkhova, N. V., Kucher, A. N., Konusova, O. L., Gushchina, E. S., Yartsev, V. V., Pogorelov, Y. L. (2018). Dark-Colored Forest Bee *Apis mellifera* in Siberia, Russia: Current State and Conservation of Populations. In B. Şen & O. Grillo (Szerk.), *Selected Studies in Biodiversity*. InTech. <https://doi.org/10.5772/intechopen.71603>
- Ostroverkhova, N., Kucher, A., Konusova, O., Gushchina, E., Yartsev, V., & Pogorelov, Y. (2018). Dark-Colored Forest Bee *Apis mellifera* in Siberia, Russia: Current State and Conservation of Populations. <https://doi.org/10.5772/intechopen.71603>
- Örösi P. Z. (1934): A magyarországi méhek ormányának hosszúsága. *Debreceni Szemle, tudományos folyóirat*, VIII.évf. 78. sz. 04/145-157.
- Paál, D., Kopernick, J., Gasper, J., Vašíček, D., Vašíčková, K., Bauerová, M., Bauer, M. (2013). Microsatellite analysis of the slovak carniolan honey bee (*apis mellifera carnica*). *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2013(vol. 2), 1517–1525.
- Palmer, M. R. (2000). *The evolution and distribution of a mitochondrial VNTR in the honey bee Apis mellifera L.* University of Kansas.
- Panaud, O., Chen, X., McCouch, S. R. (1996). Development of microsatellite markers and characterization of simple sequence length polymorphism (SSLP) in rice (*Oryza sativa* L.). *Molecular and General Genetics MGG*, 252(5), 597–607.
<https://doi.org/10.1007/BF02172406>
- Péntek-Zakar E. (2014): A magyarországi mézelőméh-populációkban (*Apis mellifera carnica pannonica* Poll.) megjelenő határ menti fajták kimutatása genetikai és morfológiai módszerekkel. Doktori (PhD) értekezés, Debreceni egyetem, Debrecen. 149p.

- Péntek-Zakar E., Oleksa A., Borowik T., Kusza Sz. (2015): Population structure of honey bees in the Carpathian Basin (Hungary) confirms introgression from surrounding subspecies. *Ecology and Evolution*, 5(23):5456-5467. doi: 10.1002/ece3.1781
- Rautiala, P., Helanterä, H., Puurtinen, M. (2019). Extended haplodiploidy hypothesis. *Evolution letters*, 3(3), 263–270. <https://doi.org/10.1002/evl3.119>
- Robert F. W., Philipp W. H. (1997) *Genetics – Third edition*, The McGraw-Hill Companies
- Ruttner F. (1992): *Naturgeschichte der Honigbienen*. Ehrenwirth Verlag. München. 350.p
- Ruttner, F., Tassencourt, L., Louveaux, J. (1978). Biometrical-statistical analysis of the geographic variability of *Apis mellifera* LI Material and methods. *Apidologie*, 9(4), 363-381.
- Sammataro, D., Avitabile, A. (2011). *The beekeeper's handbook* (4th ed). Comstock Pub. Associates.
- Selcoe K. A., Toonen R. J. (2006): Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecol. Lett.* 9: 615-629.
- Sheppard, W. S., Smith, D. R. (2000). Identification of African-Derived Bees in the Americas: A Survey of Methods. *Annals of the Entomological Society of America*, 93(2), 159–176. [https://doi.org/10.1603/0013-8746\(2000\)093\[0159:IOADBI\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0013-8746(2000)093[0159:IOADBI]2.0.CO;2)
- Solignac M., Vautrin D., Loiseau A., Mougél F., Baudry E., Estoup A., Garnery L., Habert M., Cornuet J-M. (2003): Five hundred and fifty microsatellite markers for the study of the honeybee (*Apis mellifera* L.) genome. *Molecular Ecology Notes*, 3(2):307-311. doi: 10.1046/j.1471-8286.2003.00436.x
- Solignac, M., Zhang, L., Mougél, F., Li, B., Vautrin, D., Monnerot, M., Cornuet, J. M., Worley, K. C., Weinstock, G. M., Gibbs, R. A. (2007). The genome of *Apis mellifera*: dialog between linkage mapping and sequence assembly. *Genome biology*, 8(3), 403. <https://doi.org/10.1186/gb-2007-8-3-403>
- Szabo, T. I., & Heikel, D. T. (1987). Numbers of Spermatozoa in Spermathecae of Queens Aged 0 to 3 Years Reared in Beaverlodge, Alberta. *Journal of Apicultural Research*, 26(2), 79–82. <https://doi.org/10.1080/00218839.1987.11100741>
- Szabolcsi Z., Egyed B., Zenke P., Borsy A., Pádár Z., Zöldág L., Buzás Z., Raskó I., Orosz L., 2008: Genetic identification of red deer using autosomal STR markers. *Forensic Science*

- International: Genetics Supplement Series 1. 1. p. 623–624.
<https://doi.org/10.1016/j.fsigs.2007.10.003>
- Szabolcsi Z., Egyed B., Zenke P., Padar Z., Borsy A., Steger V., Pasztor E., Csanyi S., Buzas Z., Orosz L., 2014: Constructing STR Multiplexes for Individual Identification of Hungarian Red Deer. *Journal of Forensic Sciences*, 59. 4. p. 1090–1099.
<https://doi.org/10.1111/1556-4029.12403>
- Szalai M. E. (2002): *Gazdasági állataink - Fajtatan: Méh. Mezőgazda kiadó. Budapest.* p. 68.
- The Honeybee Genome Sequencing Consortium. (2006). Insights into social insects from the genome of the honeybee *Apis mellifera*. *Nature*, 443(7114), 931–949.
<https://doi.org/10.1038/nature05260>
- Thunman, P. (2016). Rescue project for the native bee, (*Apis mellifera mellifera* L.) in Sweden. *Biomics*, 8(1), 65-68.
- Uzunov, A., Meixner, M. D., Kiprijanovska, H., Andonov, S., Gregorc, A., Ivanova, E., ... Kryger, P. (2014). Genetic structure of *Apis mellifera macedonica* in the Balkan Peninsula based on microsatellite DNA polymorphism. *Journal of Apicultural Research*, 53(2), 288-295.
- Viert, V., Wegener, J., Bienefeld, K. (2021). Europe's First Gene Bank for Honey Bees. *Bee World*, 98(4), 110–114. <https://doi.org/10.1080/0005772X.2021.1927576>
- Vignal A., Milan D., SanCristobal M., Eggen A. (2002): A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genetics Selection Evolution*, 34.(3): 275-306.
- Weaver R.F., Hedrick P.W. (2000): *Genetika. Panem Kiadó, Bp* p. 618.
- Weinstock, G. M., Robinson, G. E., Gibbs, R. A., Worley, K. C., Evans, J. D., Maleszka, R., ... Collinge, D. (2006). Insights into social insects from the genome of the honeybee *Apis mellifera*. *Nature*, 443(7114), 931-949.
- 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. (2006). Thrice out of Africa: ancient and recent expansions of the honey bee, *Apis mellifera*. *Science (New York, N.Y.)*, 314(5799), 642–645. <https://doi.org/10.1126/science.1132772>

Wictum E., Kun T., Lindquist C., Malvick J., Vankan D., Sacks B., 2013: Developmental validation of DogFiler, a novel multiplex for canine DNA profiling in forensic casework. *Forensic Science International: Genetics*, 7. 1. p. 82–91. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2012.07.001>

Wilde, J. de, Beetsma, J. (1982). The Physiology of Caste Development in Social Insects. In M. J. Berridge, J. E. Treherne, & V. B. Wigglesworth (Szerk.), *Advances in Insect Physiology* (Köt. 16, o. 167–246). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0065-2806\(08\)60154-X](https://doi.org/10.1016/S0065-2806(08)60154-X)

Winston, M. L. (1991): The biology of the honey bee. Harvard University Press, Cambridge.

Woodward, D., (1993): Ligurian Bees. *American Bee Journal*, 133: 124 –125.

Internetes:

I1.: MMOE 2019.: Pannon méh teljesítményvizsgálati kódex 2019 <https://portal.nebih.gov.hu/documents/10182/43858/Pannon+m%C3%A9h+teljes%C3%ADtm%C3%A9nyvizsg%C3%A1lati+k%C3%B3dex+2019.pdf/dbee9a9b-0a6f-f454-04ee-31b962925d1d> (utolsó elérés: 2021.11.03.)

I2.: FAO (2018). Global survey of honeybees and other pollinators. Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture, 1-20. CGRFA/WG-AnGR-10/18/Inf.7 (utolsó elérés: 2021.11.03.)

I3.: <http://lifemap-ncbi.univ-lyon1.fr/?tid=183418> (utolsó elérés: 2021.11.03.)

I4.: Képviselői Információs Szolgálat 2020.: Méhészet, mézpiac. Információs jegyzet. [Budapest] 4. p. 2020/20. 2020. április 23. (utolsó elérés: 2021.11.03.)

8. Köszönetnyilvánítás

Ezúton is szeretnék köszönetet mondani mindazoknak, akik segítségével hozzájárultak a dolgozatom megszületéséhez.

Köszönettel tartozok témavezetőimnek, Dr. Varga László Andrásnak, a Genetika és Biotechnológiai Intézet igazgató helyettesének és Dr. Stéger Viktornak, a Genetika és Genomika Tanszék vezetőjének a munkám során nyújtott útmutatásért, valamint szakmai támogatásért.

Hálás köszönet Ninausz Nórának és Fehér Péter Árpádnak az Állatbiotechnológiai és Állattudományi Doktori Iskola doktorandusz hallgatóinak, továbbá Pásztor Adriennek, a MATE-GBI tanszékén kutatási asszisztensként dolgozó hallgatójának a támogatásukért és felkészültségükért, ami hozzájárult a dolgozat elkészüléséhez.

Köszönetet szeretnék mondani az együttműködő méhanyanevelőknek és a résztvevő központi teljesítményvizsgálat telepek (KTV) vezetőinek, hogy biztosították a kutatáshoz szükséges mintákat, és adatokat.

Szeretném hálámat kifejezni az Agrárminisztériumnak (AM), az Országos Magyar Méhészeti Egyesületnek (OMME), a Magyar Méhtenyésztők Országos Egyesületének (MMOE), hogy a Magyar Méhészeti Nemzeti Program Alkalmazott kutatás (OMME-AM-MNMP-2020. 57/2019.(XII.14)AM-rendelet 27 §) által támogatták a kutatásainkat.

AZ INNOVÁCIÓS ÉS TECHNOLÓGIAI MINISZTERIUM ÚNKP-21-2 KÓDSZÁMÚ ÚJ NEMZETI KIVÁLÓSÁG PROGRAMJÁNAK A NEMZETI KUTATÁSI, FEJLESZTÉSI ÉS INNOVÁCIÓS ALAPBÓL FINANSZÍROZOTT SZAKMAI TÁMOGATÁSÁVAL KÉSZÜLT.



9. Mellékletek

No.	Biobank_ID	Kaptár azonosító	Telephely jelölése
1.	5971	106/10	KTV1_SzT
2.	5972	106/9	KTV1_SzT
3.	5973	106/8	KTV1_SzT
4.	5974	106/6	KTV1_SzT
5.	5975	106/5	KTV1_SzT
6.	5976	106/4	KTV1_SzT
7.	5977	135/1	KTV1_SzT
8.	5978	135/2	KTV1_SzT
9.	5979	135/3	KTV1_SzT
10.	5980	135/4	KTV1_SzT
11.	5981	575/1	KTV1_SzT
12.	5982	575/2	KTV1_SzT
13.	5983	575/3	KTV1_SzT
14.	5984	575/4	KTV1_SzT
15.	5985	514/1	KTV1_SzT
16.	5986	514/2	KTV1_SzT
17.	5987	438/2	KTV2_SO
18.	5988	438/5	KTV2_SO
19.	5989	438/7	KTV2_SO
20.	5990	438/8	KTV2_SO
21.	5991	144/1	KTV2_SO
22.	5992	144/4	KTV2_SO
23.	5993	144/5	KTV2_SO
24.	5994	144/9	KTV2_SO
25.	5995	272/3	KTV2_SO
26.	5996	272/4	KTV2_SO
27.	5997	272/8	KTV2_SO
28.	5998	272/10	KTV2_SO
29.	5999	zichy1	KTV2_SO
30.	6000	zichy2	KTV2_SO
31.	6001	zichy3	KTV2_SO
32.	6002	zichy4	KTV2_SO
33.	6003	32-452/32	KTV3_LS
34.	6004	67-382/67	KTV3_LS
35.	6005	24-501/24	KTV3_LS
36.	6006	29-501/29	KTV3_LS
37.	6007	22-501/22	KTV3_LS

No.	Biobank_ID	Kaptár azonosító	Telephely jelölése
38.	6008	38-452/38	KTV3_LS
39.	6009	39-452/39	KTV3_LS
40.	6010	41-936/41	KTV3_LS
41.	6011	46-936/46	KTV3_LS
42.	6012	64-382/64	KTV3_LS
43.	6013	3-460/03	KTV3_LS
44.	6014	81	KTV3_LS
45.	6015	piros	KTV3_LS
46.	6016	77-907/77	KTV3_LS
47.	6017	63-382/63	KTV3_LS
48.	6018	78-907/78	KTV3_LS
49.	6019	214/20	KTV4_HD
50.	6020	907/20/2	KTV4_HD
51.	6021	1/20	KTV4_HD
52.	6022	4/42/20/2	KTV4_HD
53.	6023	4/42/20/1	KTV4_HD
54.	6024	907/20/1	KTV4_HD
55.	6025	857/20/1	KTV4_HD
56.	6026	857/20/2	KTV4_HD
57.	6028	214/20/1	KTV4_HD
58.	6029	467/20/2	KTV4_HD
59.	6183	M5/18	KTV4_HD
60.	6035	K/83	M1_HJ
61.	6036	K14/83	M1_HJ
62.	6037	K34/83	M1_HJ
63.	6038	K49/64	M1_HJ
64.	6039	K38/83	M1_HJ
65.	6040	K59/64	M1_HJ
66.	6041	K37/83	M1_HJ
67.	6042	K36/83	M1_HJ
68.	6043	K33/83	M1_HJ
69.	6044	K56/64	M1_HJ
70.	6045	K39/83	M1_HJ
71.	6046	K43/64	M1_HJ
72.	6047	K44/64	M1_HJ
73.	6048	K27/84	M1_HJ
74.	6049	K12/84	M1_HJ

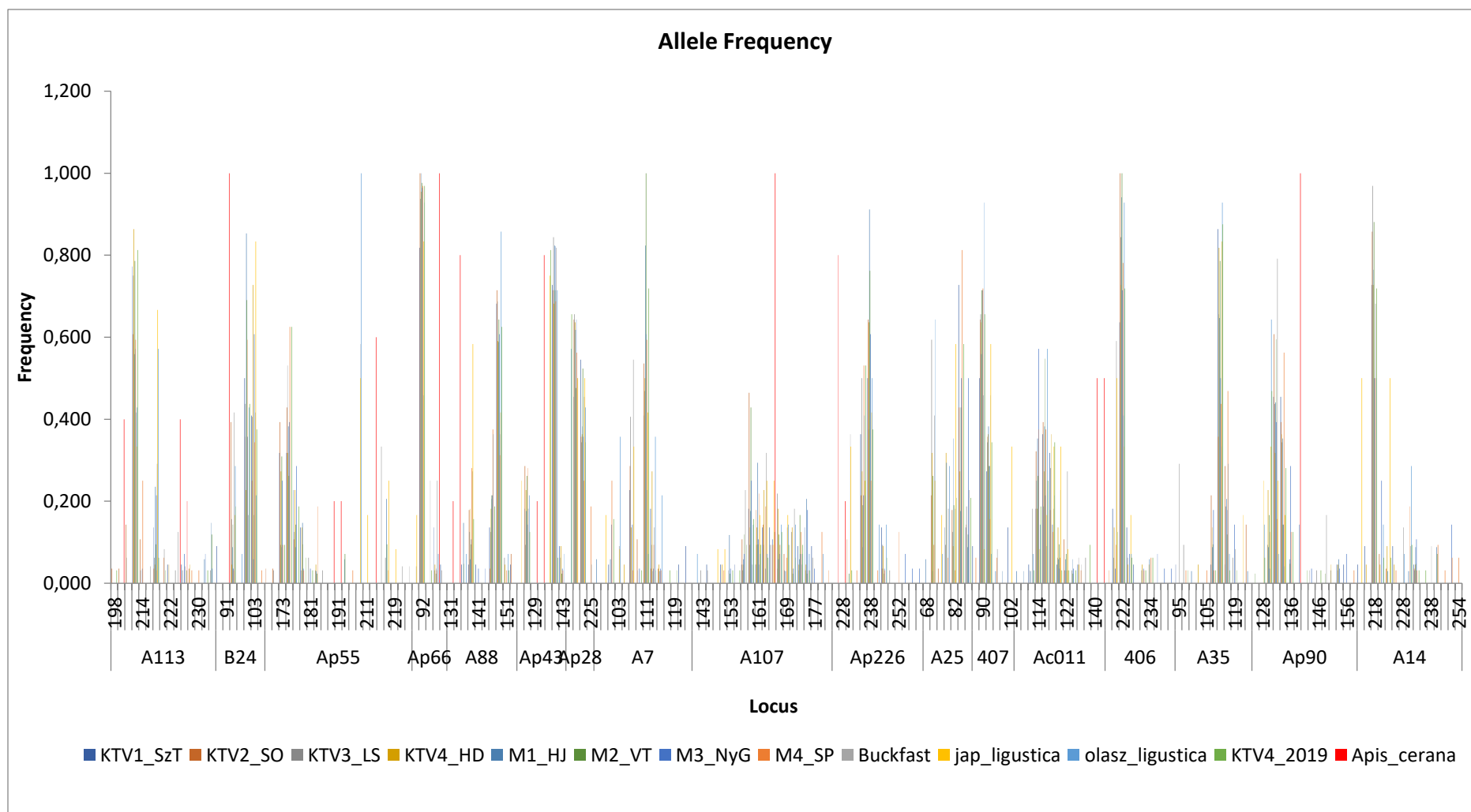
No.	Biobank_ID	Kaptár azonosító	Telephely jelölése
75.	6050	K14/84	M1_HJ
76.	6191	K17/84	M1_HJ
77.	6051	57	M2_VT
78.	6052	61	M2_VT
79.	6053	58	M2_VT
80.	6054	1	M2_VT
81.	6055	2	M2_VT
82.	6056	10	M2_VT
83.	6057	5	M2_VT
84.	6058	6	M2_VT
85.	6059	3	M2_VT
86.	6060	31	M2_VT
87.	6061	9	M2_VT
88.	6062	70	M2_VT
89.	6063	4	M2_VT
90.	6064	30	M2_VT
91.	6065	74	M2_VT
92.	6066	75	M2_VT
93.	6185	50	M2_VT
94.	6186	72	M2_VT
95.	6187	54	M2_VT
96.	6188	73	M2_VT
97.	6189	71	M2_VT
98.	6190	55	M2_VT
99.	6067	21_0101	M3_NyG
100.	6068	21_0124	M3_NyG
101.	6069	21_0103	M3_NyG
102.	6070	21_0104	M3_NyG
103.	6071	21_0112	M3_NyG
104.	6072	21_0109	M3_NyG
105.	6073	21_0107	M3_NyG
106.	6074	21_0132	M3_NyG
107.	6075	21_0209	M3_NyG
108.	6076	21_20/444	M3_NyG
109.	6077	21_0211	M3_NyG
110.	6078	21_20/11	M3_NyG
111.	6079	21_20/10	M3_NyG

No.	Biobank_ID	Kaptár azonosító	Telephely jelölése
112.	6080	21_0214	M3_NyG
113.	6082	21_0116	M3_NyG
114.	6219	21_0133	M3_NyG
115.	6098	121	M4_SP
116.	6099	127	M4_SP
117.	6100	12	M4_SP
118.	6101	125	M4_SP
119.	6102	206	M4_SP
120.	6103	51	M4_SP
121.	6104	2	M4_SP
122.	6105	1	M4_SP
123.	6106	195	M4_SP
124.	6107	8	M4_SP
125.	6108	52	M4_SP
126.	6109	231	M4_SP
127.	6110	58	M4_SP
128.	6111	162	M4_SP
129.	6112	111	M4_SP
130.	6113	53	M4_SP

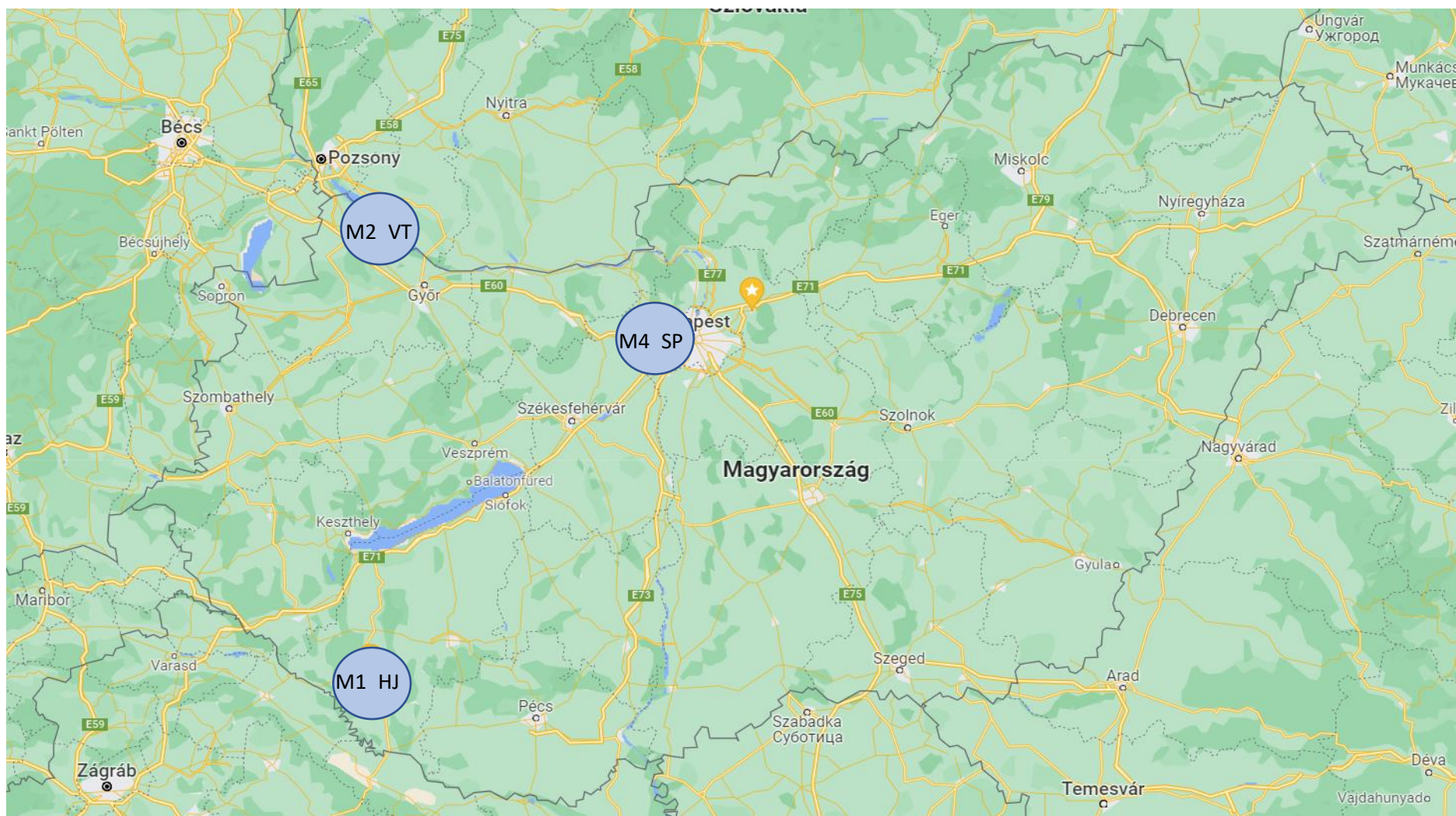
1. melléklet: Vizsgált minták adatai, telephelyek szerint rendezve

		LG			80	85	90	95	100	105	110	115	120	125	130	135	140	145	150	155	160	165	170	175	180	185	190	195	200	205	210	215	220	225	230	235	240	245	250			
Multiplex	Marker	Kr.	Elhelyezkedés																																							
Apisplex1	A88	8	8 219 647	8 219 783												A88																										
	A113	6	5 156 249	5 156 468																											A113											
	B24	7.	10 847 274	10 847 368					B24																																	
	Ap28	16.	3 524 113	3 524 326																																						
	Ap43	1.	29 754 731	29 754 838										Ap43																												
	Ap55	1.	29 101 690	29 101 883																				Ap55																		
	Ap66	3.	8 563 865	8 563 948	Ap66																																					
Apisplex2	A7	8.	3 713 168	3 713 276							A7																															
	A35	14.	2 753 237	2 753 336				A35																																		
	406	*	*	*																														406								
	Ac011	9.	9 725 046	9 724 941					Ac011																																	
	Ap090	3.	5 502 623	5 502 731												Ap90																										
	Ap226	1.	23 372 299	23 372 499																																						
	A14	8.	3 490 980	3 491 167																						A14																
	A107	7.	5 000 049	5 000 210																																						
	407	*	*	*					407																																	
	A025	10.	11 160 021	11 160 107	A25																																					

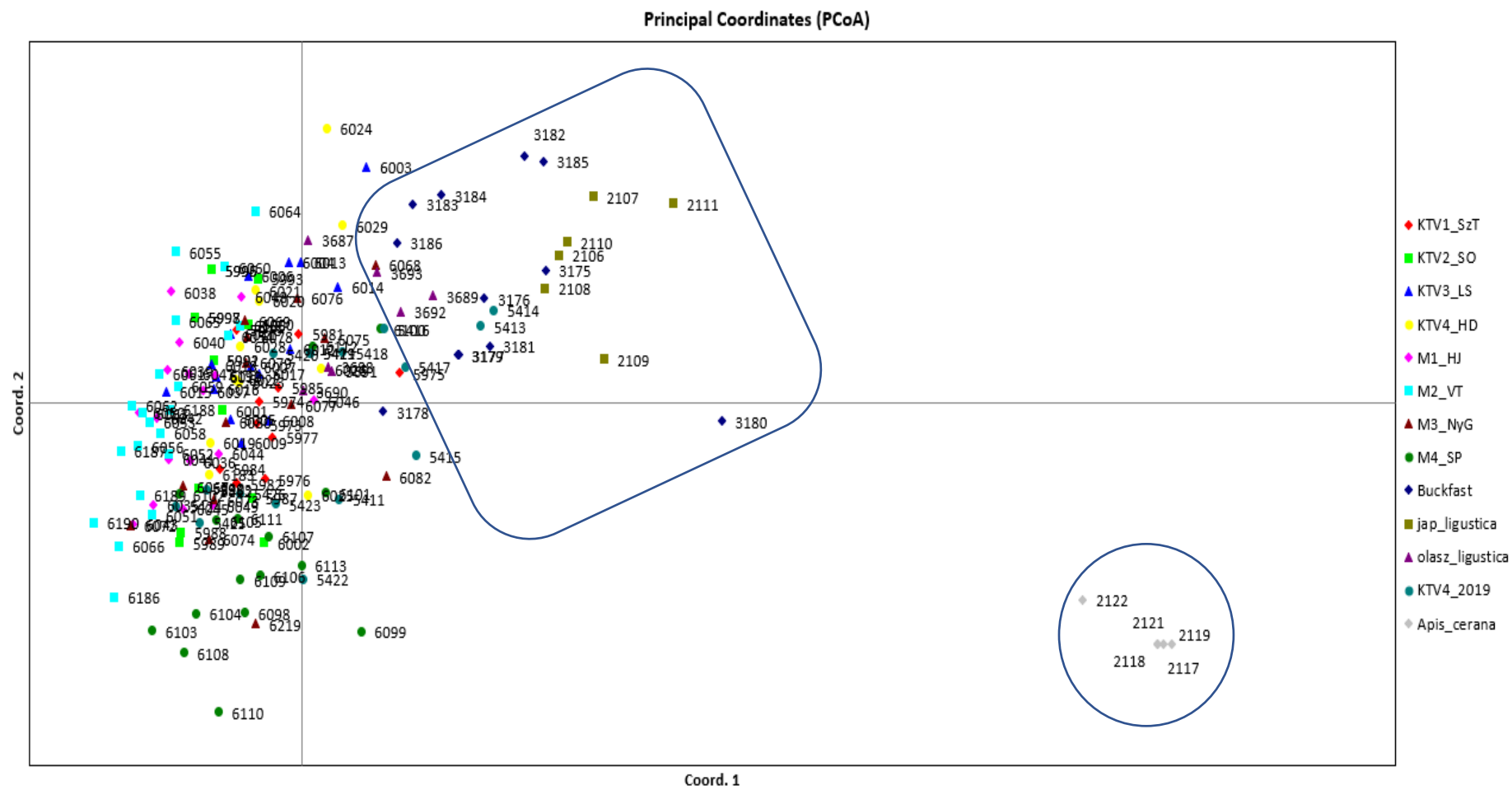
2. melléklet: A várható allélméretek (bázispár-bp), elhelyezkedésük a multiplexekben és fluoreszcens jelölésük. (*-publikálás alatt)



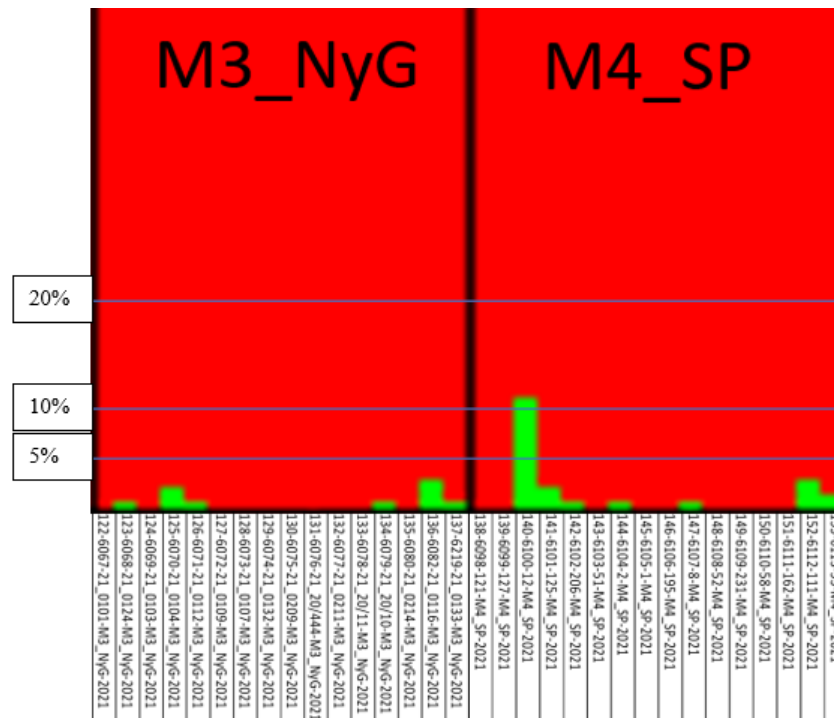
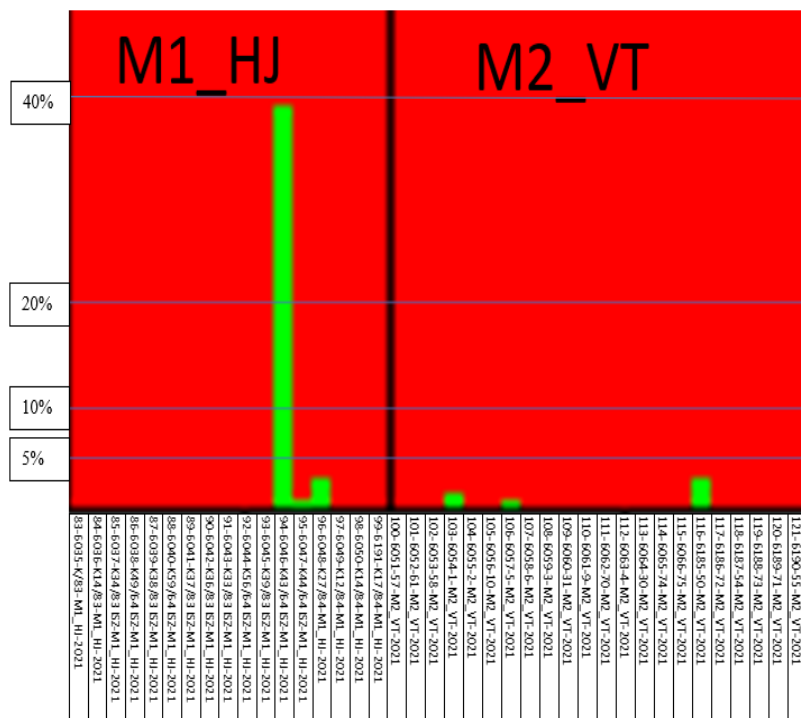
3. melléklet: A használt markerek allélfrekvenciái a vizsgált magyar és a referencia populációban /GenAlex Version 6.503 (Peakall & Smouse 2012)/)



4. melléklet: Az egymástól legnagyobb és legkisebb genetikai távolságra lévő telepek térképen jelölve



5. melléklet: A populációgenetikai vizsgálatokhoz használt referenciapopuláció egyedei, és a vizsgált magyar populáció közti genetikai távolság /GenAlex Version 6.503 (Peakall & Smouse 2012)/



6. melléklet: Méhész 1 (Nagyatád) és Méhész 2 (Kisbodak), Méhész 3 (Székesfehérvár) és Méhész 4 (Törökbálint) telephelyek genetikai fajtatisztaságvizsgálat eredménye. Az egyedek azonosítója feletti rész mutatja a hibridizáció mértékét.

ÖSSZEFOGLALÓ MATE GBI TDK 2021.

FAJTATISZTA PANNON MÉHCSALÁDOK FENNTARTÁSÁNAK TÁMOGATÁSA GENETIKAI MÓDSZEREKKEL

Maintenance of purebred Pannonian bee colonies using genetic methods

Készítette: **Hegedűs Bettina**, Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Genetika és Biotechnológia Intézet, Gödöllő, Agricultural biotechnology MSc, II. évfolyam

Témavezető: **Dr. Stéger Viktor**, Tanszékvezető **MATE-GBI**, Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Genetika és Genomika Tanszék, Gödöllő

Témavezető: **Dr. Varga László András**, Intézetigazgató helyettes **MATE-GBI**, Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Genetika és Biotechnológia Intézet, Gödöllő

Az *Apis mellifera* nyugati mézelő méh az egyik legalkalmazkodóbb, és méhészetek számára termelés tekintetében legkiválóbb mézelő méh faj. A legelterjedtebb alfajai közé tartozik az *Apis mellifera carnica* és az *Apis mellifera ligustica*, melyek gazdasági jelentőségük miatt népszerűek a méhésztársadalomban.

Napjainkban Magyarországon az itt honos *Apis mellifera carnica pannonica* fajtát (pannon méh) lehet tenyészteni, és kereskedésbe bocsátani. Ezzel védve a magyar pannon méhállományt a külföldről importált, és elterjedési területében szomszédos egyéb fajok és fajták hatásától. A tiszta pannon vonalak fenntartása különösen fontos feladat, ezért fontos a fajtatisztaságának ellenőrzése, és irányított tenyésztése.

Dolgozatomban összesen 4 KTV (központi teljesítményvizsgáló) telep és 4 méhanyanevelő családjai lefedett, de ki nem fejlett haploid herefiasításából izolált DNS-ből állapítottuk meg az anyák fajtatisztaságát. A csoport által korábban fejlesztett, továbbá szakirodalomból adaptált, összesen 17 db STR markerből álló 2 db multiplexet optimalizáltam, melyek segítségével meghatároztuk a pannon méhanyák genotípusát.

A populációgenetikai vizsgálatok alapján 8 családot nem ajánlottunk további tenyésztésre, mivel hibridizációs értékük elérte az 5%-ot, ami már befolyásolhatta volna a fajtatiszta vonal fenntartását. A továbbiakban bioinformatikai programok segítségével becsültem meg többek közt a genetikai diverzitás mértékét és a rokonsági kapcsolatok valószínűségét. A vizsgálatok során kapott eredményeket megerősítették a birtokunkban lévő tenyésztési adatok.

A markerszettünk így használható az *A. m. c. pannonica* fajtatisztaságának ellenőrzésére, továbbá genetikai diverzitás, genetikai távolságok, és rokoni kapcsolatok becslésére is.