



**A PANNON MÉH EVOLÚCIÓS EREDETÉNEK ÉS
GENETIKAI SOKFÉLESÉGÉNEK VIZSGÁLATA
MOLEKULÁRIS MÓDSZEREKKEL**

**Balázs Réka
Gödöllő
2025**

A doktori iskola megnevezése: Állatbiotechnológia és Állattudományi Doktori Iskola

Tudományága: Állattenyésztés-tudományok

Vezetője: Prof. Dr. Mézes Miklós
egyetemi tanár, MTA rendes tagja
Magyar Agrár és Élettudományi Egyetem,
Takarmányozástani Intézet, Takarmányozástani Tanszék

Témavezetők: Dr. Pálincás-Bodzsár Nóra
Tudományos főmunkatárs
Nemzeti Biodiverzitás- és Génmegőrzési Központ,
Haszonállat-génmegőrzési Intézet,
Génmegőrzés-tudományi és Kisállattenyésztési Osztály

Dr. Hidas András
Tudományos főmunkatárs
Nemzeti Biodiverzitás- és Génmegőrzési Központ,
Haszonállat-génmegőrzési Intézet,
Génmegőrzés-tudományi és Kisállattenyésztési Osztály

.....
Iskolavezető jóváhagyása
Prof. Dr. Mézes Miklós

.....
Témavezető jóváhagyása
Dr. Pálincás-Bodzsár Nóra

.....
Társ-témavezető jóváhagyása
Dr. Hidas András

„Nem lehet elvitatni, hogy a méheket elsősorban a Természet tartja el, de az a Természet, amely az eltartás fejében követeléssel lép föl a méhfajjal szemben. — Azt követeli, hogy mindenütt ott legyenek, ahol virág nyílik és annak megtermékenyülését, — faji fennmaradását, — munkájukkal mozdítsák elő.”
(Szontágh Pál (1937): *Vissza a természethez III., Méhészetünk - 10. évf. 11. sz.*)

Tartalomjegyzék

JELÖLÉSEK, RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE.....	6
1. BEVEZETÉS.....	8
2. CÉLKITŰZÉS.....	9
3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	10
3.1. Mézelő méh állományok populációméretének alakulása, idegen alfajok behozatalának veszélyei	10
3.2. A mézelő méhek egyedi genetikai és szaporodásbiológiai tulajdonságai	13
3.3. Irányított tenyésztés mézelő méhek esetében	14
3.4. A pannon méh kialakulása és jellemzése, hazánkban előforduló egyéb alfajok	15
3.5. A pannon méh morfológiai fajtaminósítása, tenyésztési program	21
3.5.1. Üzemi saját teljesítményvizsgálat mézelő méh esetében.....	22
3.5.2. Fajtabélyegek vizsgálata, a pannon méhek minősítése	23
3.6. Molekuláris genetika a méhek világában	25
3.6.1. Restrikciós fragmenthossz polimorfizmus (RFLP)	25
3.6.2. Véletlenszerűen felszaporított polimorf DNS (RAPD)	26
3.6.3. Amplifikált fragmenthossz polimorfizmus (AFLP).....	27
3.6.4. Mitokondriális DNS (mtDNS).....	27
3.6.5. Mikroszatellit (SSR)	30
3.6.6. Egy pontos nukleotid polimorfizmus (SNP).....	31
4. ANYAG ÉS MÓDSZER.....	33
4.1. A vizsgálatban részt vevő méhcsoportok kialakítása	33
4.2. Genomi DNS izolálása és egalizálása	36
4.3. Mitokondriális DNS vizsgálat	37
4.4. Mikroszatellit genotipizálás.....	38
4.5. Teljes genom szekvenálás	39
4.6. Az adatelemzéshez használt statisztikai módszerek	40
4.6.1. Mitokondriális DNS analízis.....	40
4.6.2. Mikroszatellit alapú populációgenetikai elemzések	41
4.6.3. SNP adatok bioinformatikai kiértékelése.....	42
5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK	44
5.1. Mitokondriális DNS elemzés.....	44
5.1.1. A COI és 16S mitokondriális régiók variabilitása	44
5.1.2. Evolúciós eredet meghatározása az tRNA ^{Leu} -cox2 intergénikus régió (COI-COI _{II}) alapján	48

5.2. Mikroszatellit marker analízis	53
5.2.1. A teljes genom szekvenálásra kiválasztott mintagyűjtemény populációgenetikai analízise mikroszatellit markerekkel.....	59
5.3. Nagy felbontású markerelemzés pontmutációk alapján	61
6. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK.....	66
6.1. A mitokondriális DNS adatok értelmezése és jelentősége	66
6.2. A vizsgált méhcsoportok genetikai diverzitása mikroszatellit markerek alapján.....	68
6.3. SNP variánsok vizsgálatából levonható következtetések	71
6.4. Javaslatok.....	73
7. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	74
8. ÖSSZEFOGLALÁS.....	75
9. SUMMARY	77
10. MELLÉKLETEK	79
11. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	110

JELÖLÉSEK, RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

A - Adenin

AFLP - Amplified Fragment Length Polymorphism

AMOVA - Analysis of Molecular Variance

BLAST - Basic Local Alignment Search Tool

BP - Bázipár

C - Citozin

CI - kubitális index

COI, COX1 - citokróm-oxidáz I. gén

CSD - complementary sex determiner (komplementer ivar-determináció)

DAPC - Discriminant Analysis of Principal Components

DNS - Dezoxi-ribonukleinsav

EDTA - Etilén-diamin-tetraecetsav

FAO - Food and Agriculture Organization (Élelmészügyi és Mezőgazdasági Világszervezet)

G - Guanin

HCL - Hidrogén-klorid

HGI - Haszonállat-génmegőrzési Intézet

HWE - Hardy-Weinberg Egyensúly

K - Klaszterszám

KASP - Kompetitive Allele Specific PCR

KHCO₃ - Kálium-hidrogén-karbonát

MABC - Marker Assisted Backcrossing

MARS - Marker Assisted Recurrent Selection

MMOE - Magyar Méhtenyésztők Országos Egyesülete

mtDNS - mitokondriális DNS

NaCl - Nátrium-klorid

NBGK - Nemzeti Biodiverzitás- és Génmegőrzési Központ

NCBI - National Center for Biotechnology Information

NÉBIH - Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal

NGS - Next Generation Sequencing

NH₄Cl - Ammónium-klorid

PCoA - Principal Coordinate Analysis

PCR - Polymerase Chain Reaction (polimeráz láncreakció)

PIC - Polymorphic Information Content (polimorfizmus információ tartalom)

QTL - Quantitative Trait Locus

RAPD - Random Amplified Polymorphic DNA

RFLP - Restriction Fragment Length Polymorphism

SNP - Single Nucleotide Polymorphism (egy pontos nukleotid polimorfizmus)

SSR - Single Sequence Repeat (egyszerű szekvenciaismétlés)

T - Timin

1. BEVEZETÉS

A mézelő méhek kulcsfontosságú szerepet játszanak az ökoszisztémában és a gazdaságban (Westerkamp & Gottsberger 2000, Klein et al. 2007).

Az élővilágban mind a vadon élő, mind az emberi fogyasztásra szánt növények megtermékenyítésében nélkülözhetetlen a beporzók tevékenysége. Tizenhárom növénynél figyelték meg, hogy az állati eredetű beporzók elengedhetetlenek a megtermékenyítéshez, míg 30 faj esetében döntő mértékben járultak hozzá (Klein et al. 2007). A mézelő méhek nemcsak a növények beporzásában, hanem az általuk előállított termékek – mint a méhviasz, méhpempő, méhméreg, pollen, propolisz és méz – felhasználása tekintetében is fontos szerepet töltenek be az emberek életében.

Napjainkban számos tanulmány hívja fel a figyelmet arra, hogy a méhek pusztulása komoly problémákat okozhat az ökológiában, illetve a mezőgazdaságban (Hopkins & Herr 2010, Harwood & Dolezal 2020). Világszinten a méztermelés 2009-ben 1.505 ezer tonna (FAO 2009), 2017-ben 1.878 ezer tonna (FAO 2017), 2020-ban pedig már 1.903 ezer tonna (FAO 2020), 2023-ban 1.893 ezer tonna volt (FAO 2023). Magyarországon ebből 2009-ben 22,5 ezer (FAO 2009), 2017-ben 32 ezer tonnát (FAO 2017) állítottak elő, azonban 2020-ra csaknem a felére, 14 ezer tonnára csökkent a méztermelés (FAO 2020).

Egyes elemzések szerint 2050-re a Földön körülbelül 9 milliárd ember fog élni, és az emberiség túlélésében a méheknek fontos szerepük lesz (Brown & Paxton 2009). Albert Einstein híres mondása is rámutat a faj jelentőségére: *„Ha a méhek valaha eltűnnek a Földről, az emberiségnek csak négy éve lenne hátra.”*.

A genetikai sokféleség csökkenése, mint más haszonállatok esetében, a mézelő méheknél is nagy problémát jelent, ha nem nagyobb, egyedi genetikai és szaporodásbiológiai tulajdonságaik miatt. Fontos feladat az őshonos/honos mézelő méhek védelme, genetikai diverzitásuk megőrzése (Wegener et al. 2014). Az eredeti génkészlettel rendelkező állományok védelme céljából számos génmegőrzésre irányuló program indult szerte a világon *in vivo* (élő állatállomány fenntartása), illetve *in vitro* (laboratóriumi körülmények) formában, többek között Dániában és Franciaországban is (Jensen & Pedersen 2005, Strange et al. 2008). Magyarországon a Nemzeti Biodiverzitás- és Génmegőrzési Központ Haszonállat-génmegőrzési Intézetében ehhez kapcsolódóan kezdődtek el a krajnai méh (*Apis mellifera carnica*) pannon ökotípusának genetikai állapotát feltáró vizsgálatok.

2. CÉLKITŰZÉS

Munkám során célul tűztem ki:

- a pannon méh, mint a jelenleg Magyarországon kizárólagosan tenyésztendő fajta származásának, evolúciós eredetének meghatározását mitokondriális DNS alapján,
- a méhanya nevelők pannon méh tenyésztési genetikai diverzitásának felmérését országszerte mikroszatellit markerek alapján,
- a fajtastandardnak megfelelt magyarországi pannon méhek összehasonlítását a morfológiailag hibás egyedekkel, krajnai (*Apis mellifera carnica*) méhekkel, és más egyéb, országunkban előforduló alfajokkal molekuláris genetikai eljárásokkal,
- a nagyobb felbontású teljes genom szekvenálás releváns mintakollekciójának kiválasztását,
- olyan SNP variánsok detektálását, melyek jó alapot biztosítanak egy, a pannon méh azonosítására és/vagy elkülönítésére alkalmas SNP markerpanel létrehozásához.

Mindezt a hazánkban alkalmazott, génmegőrzésre irányuló tenyésztési módszer minősítése, a genetikai sokféleség megőrzése és a pannon méh fajtatiszta állományainak fenntartása szempontjából.

A méhtenyészetek időről-időre történő, rendszeres monitorozásával ellenőrizhető és fenntartható a pannon méh genetikai sokszínűsége és esetleg tisztasága. Ezáltal megfigyelhető a genetikai diverzitás esetleges változása is, mely csökkenés esetén korrigálható. A nyert információk adaptálhatóak lehetnek más országokban élő őshonos/honos méhek génmegőrzési programjának kidolgozásában és alkalmazásában. A kapott eredmények felhasználhatóak a tenyésztésben, és nagy jelentőséggel bírnak génmegőrzési szempontból is.

3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

3.1. Mézelő méh állományok populációméretének alakulása, idegen alfajok behozatalának veszélyei

Mézelő méh populációk csökkenése figyelhető meg Európa egyes területein (például Németországban), illetve az Egyesült Államokban végzett felmérések alapján, ahol kimutatták, hogy a vadon élő és házasított mézelő méhek száma hanyatlik (FAO 1961-2023, Stokstad 2007, Potts et al. 2010, vanEngelsdorp et al. 2010).

Napjainkban számos negatív hatás éri őket, úgymint a méhekre ártalmas permetezőszerek használata (Burley et al. 2008, Kairo et al. 2016) és a klímaváltozás (Giannini et al. 2017). Populációméretüket károsan befolyásolja az élőhelyeik elvesztése, fragmentálódása, csökkenése, a telepek összeomlási zavara (Colony Collapse Disorder, CCD) (Zayed 2009), valamint a növények, gyepek élővilágának biodiverzitás-csökkenése is (Corbet 2001, Stout & Morales 2009). Az éhezés, a kedvezőtlen téli időjárás (vanEngelsdorp et al. 2010), az állatok kizsákmányolása (Weber 2012) és az invazív fajok megjelenése (Meixner et al. 2007) szintén nem kedvez az állományok kielégítő számban történő fennmaradásának. A kontrollálatlan nemzetközi kereskedelem a különböző méhbetegségek és méhparaziták (*Nosema* és *Varroa destructor*) behozatalát jelentette a már ott élő méhállományokba, mely tovább rontotta helyzetüket (Allsopp 2004, Goblirsch 2018, Noël et al. 2020, Traynor et al. 2020, Panziera et al. 2022).

Számos területen összefüggést mutattak ki a méhészek és a méhcsaládok száma között, melyre negatívan hatott, hogy egyre többen dolgoznak a városokban, egyre kevésbé népszerű hobbi a méhészkedés, illetve megemelkedett a méhbetegségek elleni gyógyszerek ára is (Potts et al. 2010).

Hazai adatok nem támasztják alá a mézelő méhek aggasztó mértékű csökkenését. Magyarországon 2022-ben 20.945 db méhészetet és 1.191.508 db méhcsaládot számoltak, így az egész ország területén az átlagos méhsűrűség 12,81 méhcsalád/km² volt. Bács-Kiskun és Szabolcs-Szatmár-Bereg vármegyében volt a legmagasabb a méhészetek (1877 db és 2037 db), illetve a méhcsaládok (127.703 db és 128.973 db) száma. A legalacsonyabb méhsűrűséget Fejér vármegyében (6,2 méhcsalád/km²) állapították meg, míg a legmagasabbat Szabolcs-Szatmár-Bereg vármegyében (21,7 méhcsalád/km²). 2012-es adatokkal (méhészetek száma: 18.976 db, méhcsaládok száma: 1.133.100 db, méhsűrűség: 12,18 méhcsalád/ km²) összevetve, az elmúlt 10 évben jelentősebb változás a méhészetek és a méhcsaládok számában, illetve a méhsűrűség tekintetében nem történt országunkban (Bross 2023).

Mint más haszonállat fajoknál, a mézelő méhek esetében is komoly problémát jelent mind a hazai, mind a külföldi populációk genetikai diverzitásának csökkenése (De la Rúa et al. 2009, Gmel et al. 2023). A sokféleség alakulásában két, egymással ellentétes folyamat játszik közre. Az egyik a nemzetközi kereskedelem, mivel az új anyák behozatala esetleg növelheti a diverzitást, a másik az intenzív, mesterséges szelekció, mely szűkítheti a változatosságot (Themudo et al. 2020). A piacon elérhető alfajok, főleg az olasz méh (*Apis mellifera ligustica*) bevitele az endemikus populációk élőhelyére introgresszív hibridizációhoz vezethet, hiszen az őshonos, honos fajták állományokban megjelenhet az idegen genetikai anyag (Jensen et al. 2005a). A hibridizációnak beláthatatlan következményei lehetnek, melyek ismeretlenek számunkra, viszont visszafordíthatatlan. Ezért is fontos a fajtastandard meghatározása, hiszen az őshonos/honos fajták diverzitásának, és egyben genetikai tisztaságának megóvása a cél.

Hatalmas médiafigyelmet kaptak a „gyilkos méhek”, melyeket 1956-ban importáltak Afrikából Dél-Amerikába a kelet-afrikai magasföldi (*Apis mellifera scutellata*, Szalainé Mátray 2002) alfajból. Nevüket erős védekező viselkedésük miatt kapták mind a támadókkal, mind a méhészekkel szemben. Ezt fokozza az, hogy ha egy egyed megszúrja a támadót, a méreg illata támadásra készíti a többi méhet is, mely számos emberáldozatot követelt. A problémát tovább súlyosbította, hogy jól alkalmazkodtak a környezeti viszonyokhoz, gyorsan elterjedtek (Brazília, Mexikó), és keveredtek az ott élő méhekkel. Ez komoly gondot okozott a méhészek számára, mert bár pozitív tulajdonságuk a magas mézhhozam, ugyanakkor erős rajzó hajlammal rendelkeznek és rendkívül nehezen kezelhetők (Winston 1992).

Bár nem volt emberáldozata, de az utóbbi évszázadban számos országba, úgymint Norvégiába, Svédországba, Dániába, Angliába, Skóciába és Írországba telepítettek be olasz méh állományokat a sötét európai méh (*Apis mellifera mellifera*, Szalainé Mátray 2002) populációk élőhelyére. A tanulmány szerint maradtak még fent eredeti populációk, azonban egyes területeken, például a Læsø-szigeten (Dánia) és Sheffield (Anglia) környékén a hibridizáció mértéke magas, és a többi élőhelyet is veszélyezteti a génáramlás. Az Észak-Yorkshire, Whithby környékén élő sötét európai méh mitokondriális DNS-ében kimutatták az olasz méh jelenlétét (Jensen et al. 2005a). Franciaországi populációk genetikai vizsgálata során is keveredést találtak a betelepített, C evolúciós vonalhoz tartozó olasz méh egyedekkel (Franck et al. 1998).

Ukrajna területén is hibridizáció történhetett, hiszen az állományok vizsgálata során azt tapasztalták, hogy a minták egyharmada a sötét európai, másik harmada a macedón méh (*Apis mellifera macedonica*, Szalainé Mátray 2002), harmadik harmada pedig a két alfaj hibrid csoportjába tartozik (Meixner et al. 2007).

Magyarországi állományok tanulmányozásakor megállapították, hogy a hazai méhállományok homogének, azonban más alfajok jelenlétére utaló jeleket is feltártak

mikroszatellit markerek segítségével (olasz méh (2,5 %), sötét európai méh (2,2 %) és Buckfast hibrid (1,7 %)) (Péntek-Zakar et al. 2015).

Az introgresszív hibridizáció sajnálatos módon nem a biológiai sokféleség növekedéséhez, hanem épphogy annak csökkenéséhez vezethet (Bienefeld 2016), mely egyre nagyobb figyelmet kap. Az 1992-es Rio de Janeiro-i nemzetközi egyezmény (Biológiai Sokféleség Egyezmény) célja, hogy a különböző rendszerek (szárazföldi, tengeri, vízi-ökológiai) és azok élőlényei védelmet kapjanak a genetikai diverzitás megőrzése mellett (1995. évi LXXXI. törvény a Biológiai Sokféleség Egyezmény, Wolters Kluwer).

A megfelelő diverzitáson túlmenően, az őshonos állományok fajtatiszta állapotban történő fenntartása is lényeges az ökológia, a genetika, a tudomány, az oktatás, a gazdaság, a kultúra és a társadalom területén (Szalay 2017).

A mézelő méhek védelmére *in vivo* és *in vitro* módon is vannak törekvések. A természetes környezetben élő állományok védelme érdekében különböző programokat indítottak, hogy elkerüljék az idegen genetikai anyaggal rendelkező egyedekkel való kereszteződést. Svájcban, Glarus kantonban 1977-ben természetvédelmi területet hoztak létre, hogy védjék a helyi sötét európai méh állományt. A jogi szabályozásnak köszönhetően sikerült megelőzni, hogy erősen keveredett populáció alakuljon ki, ám a génáramlás (Soland-Reckeweg et al. 2009) és a beltenyészettség problémája továbbra is fennáll (Gmel et al. 2023). Ezen kívül Dániában, Norvégiában, a Kanári-szigeteken, Franciaországban és Szlovéniában is nagy figyelmet fordítanak az őshonos/honos méhállományokra (Jensen & Pedersen 2005, Strange et al. 2008, De la Rúa et al. 2009, Gmel et al. 2023, Moškrič et al. 2022). Dél-Norvégia Flekkefjord részén előnyt jelent az *Apis mellifera mellifera* alfajnak, hogy más mézelő méhet tilos tartani. Azonban Dániában, a Læsø-szigeten ez a fajtavédelem nem vált be, mivel folyamatosan növekedett a hibridizáció mértéke (Jensen & Pedersen 2005, Jensen et al. 2005a).

A másik, az őshonos/honos fajták védelmének, megőrzésének módszere az *in vitro* technikákban rejlik. A legelső méh mélyhűtött sperma gyűjteményt a coloradoi génbankban hozták létre. A Németországban létrehozott génbank fő célja a saját őshonos alfaj, vagyis a sötét európai méh megőrzése, mivel introgresszív hibridizáció történt a behozott méhek és az itt élő állomány között, a populáció genetikai diverzitása csökkent. Ugyanakkor a krajnai méh is fellelhető ott, hiszen több mint 100 éve tenyésztik az országban. Génbankot hoztak létre Európán belül, többek között Szlovéniában, Norvégiában és Spanyolországban is (Viert et al. 2021).

Intézetünkben is jó ideje folynak kutatások egy olyan mélyhűtési eljárás kifejlesztésére, amely lehetővé teszi a pannon méh örökítőanyagának hatékony tárolását, és hosszú távú megőrzését az NBGK-HGI génbankjában. A cél egy olyan módszer kidolgozása, amely nemcsak a genetikai anyag életképességének megőrzését biztosítja, hanem a termékenyítés sikerességét is,

így hozzájárulva a pannon méh genetikai erőforrásainak fenntartásához (Sipos et al. 2021a, Sipos et al. 2021b).

3.2. A mézelő méhek egyedi genetikai és szaporodásbiológiai tulajdonságai

Egy méhcsalád általában egy anyából, 7-70 ezer dolgozóból és néhány ezer heréből áll az aktív időszakban (Vékey 1984a), de leírtak olyan esetet is, ahol több mint egy hónapon keresztül egyszerre három méhanya petézett (Borbély 1988).

Az anya és a dolgozó méhek nőivarúak és diploid kromoszóma készlettel ($2n=32$) rendelkeznek, ezzel szemben a herék hímek és haploidok ($n=16$), mivel megtermékenyítetlen petesejtből fejlődnek ki, hemizigóták (Vékey 1984a, Vékey 1984b). A méh genomja körülbelül 250 millió bázispár (Mbp) méretű, és egy nagy metacentrikus kromoszómából (1. kromoszóma), valamint 15 kisebb submetacentrikus vagy akrocentrikus kromoszómából (2-16. kromoszómák) áll. Az 1. kromoszóma két hosszú kromoszóma karral rendelkezik, míg a többi egy rövid és egy hosszú karból áll (The Honeybee Genome Sequencing Consortium 2006).

A mézelő méheknél az ivart egy komplementer ivar determinációs gén (Complementary Sex Determiner, *CSD*) határozza meg (Mackensen 1951), amely egy haplodiploid rendszeren keresztül működik. Ez a mechanizmus a hártvásszárnyúak (*Hymenoptera*) egyes csoportjaira jellemző. Az ivar kialakulásában az úgynevezett ivari allélok játszanak szerepet, amelyek ha homozigóta formában vannak jelen, akkor hímivarú, ha heterozigóta, akkor nőivarú egyedek fejlődnek. Abban az esetben, ha a megtermékenyített petesejtben az ivari allélok azonosak, akkor diploid hímek kelnek ki (Woyke 1965a), és természetes körülmények között a dolgozók megeszik őket 72 órával a kikelést követően (Woyke 1963), ezt nevezik a méhészetben „hézagos fiasításnak” (Vékey 1984c). Ha azonban hagyják őket kifejlődni, akkor ezek az egyedek teljesen életképes és termékeny hímekké válnak (Woyke 1965b, Chaud-Netto 1975). Korábban az ivari allélok számát 20 alattinak gondolták (Adams et al. 1977), azonban Lechner és munkatársai (2013) vizsgálatuk során 53 különböző allélt azonosítottak lokálisan, míg világszerte 87 ivari allél jelenlétét mutatták ki. Ezek alapján, a világon összesen 116-145 különböző ivari allél fordulhat elő.

A méhanyák a peterakást követően 15-16 nappal fejlődnek ki, majd egy héttel később keresik fel a heregyülekező helyeket, ahol párzanak. A here – ~6 hetes élete során – fő feladata az egyszeri párzás egy távolabbi anyával (7,5-15 km) (Jensen et al. 2005b). Az anya a párzás sikerességétől függően többször elhagyja a kaptárat nászrepülés céljából, hogy körülbelül 12-24 hímmel párosodjon (Estoup et al. 1994, Kryger & Moritz 1997, Kryger et al. 2000, Tarpay et al. 2004, Jensen et al. 2005b). Ezek alapján a családokat egy szupercsaládnak kell tekinteni, amit több alcsalád alkot, melyben közös az anya, azonban az apák eltérőek (Vékey 1984a). A kirepülések

mennyiségét és idejét számos környezeti tényező befolyásolja, így például a szél, a felhőzet és a hőmérséklet alakulása (Lensky & Demter 1985, Heidinger et al. 2014).

Az anya a párosodások során körülbelül 3-8 millió spermiumot gyűjt (a here átlagos spermatermelése 1,09 μ l (Rhodes et al. 2011)), majd az ondó tárolására szolgáló speciális szervben, a magtarisznyában (*spermatheca*) raktározza élete végéig (Szabo & Heikel 1987, Al-Lawati et al. 2009). Elképzelések szerint ilyenkor nyugalmi állapotba kerülnek a hímivarsejtek, többek között a fehérjéknek és a lipideknek köszönhetően (Blum et al. 1967, Poland et al. 2011). Az apánként eltérő mennyiségű spermiumok (Moritz 1983) aktív izommunka és saját mozgásuk segítségével jutnak el körülbelül 40 óra alatt (Woyke 1983) a magtarisznyába a petevezetékéből (Ruttner & Koeniger 1971). A méhanya élete során az itt tárolt örökítőanyag hozzáadásával termékenyíti meg a petesejteket, melynek száma folyamatosan csökken, egy éves korára már csak az eredeti mennyiség 38 %-a mutatható ki. Az idő előrehaladtával a spermiumok mozgásának iránya és sebessége is megváltozik (Al-Lawati et al. 2009). Feltételezhetően a különböző apák örökítőanyaga között versengés áll fent, mivel az azonos szülőkkel rendelkező utódok eltérő mértékben vannak jelen a családban, melyre nincsen hatással sem a párzás sorrendje, sem az ondó mennyisége (Franck et al. 2002, Baer et al. 2009a,b).

A sikeres párzások után az anya 3-33 nap múlva kezdi el (Gerula et al. 2012) a naponta kb. 1.500 db pete rakását (Kocher et al. 2010). A peteérési idő kezdetét (Gerula et al. 2011) a tartási körülmények befolyásolhatják, például a pároztatóban (~250 dolgozó), vagy dobozban (~400 dolgozó) történő elhelyezés (Chuda-Mickiewicz et al. 2003).

3.3. Irányított tenyésztés mézelő méhek esetében

Az irányított tenyésztés célja, hogy meghatározott egyedeket párosítsanak egymással kedvező tulajdonságaik megőrzése, a negatívak elkerülése, vagy az őshonos/honos fajok, alfajok, fajták védelme érdekében. Ez mézelő méheknél több problémába is ütközik egyedi szaporodásbiológiai tulajdonságaik miatt. A méhészetekben a génmegőrzés mellett cél lehet a pozitív irányba történő szelektálás is, például a mézhozamban, a higiénikus viselkedésben, a lépen maradásban, a nyugodtságban, vagy az áttelelő-képességben.

Az egyik lehetőség, ha földrajzilag elszigetelt helyen, például szigeten, magashegységben alakítanak ki pároztató állomást, ahol az anyák idegen egyedekkel nem tudnak érintkezni. Azonban kevés az alkalmas létesítmények helyszíneinek száma, nagyon munka- és költségigényes (Hopkins et al. 2012, Gázsó 2024).

A másik, amely a problémára megoldást jelenthet, az a műszeres, mesterséges termékenyítés (inszemináció), amely ugyan eszközigényesebb és kellő gyakorlatot igényel, de megbízhatóbb az apaság szempontjából, és nagyobb eséllyel kerülhető el a nemi úton terjedő

betegségek átadása is (Prodělalová et al. 2019). Emellett a termékenyítő anyagon számos teszt elvégezhető, hogy a legjobb minőségű ondó kerüljön felhasználásra. Hazánkban még nem terjedt el széleskörben, és nem alkalmazzák a tenyésztők rutinszerűen az eljárást, így csupán a morfológiai fajtaminósítással és molekuláris genetikai vizsgálatokkal tudjuk támogatni a pannon méh megőrzését. A Magyar Méhtenyésztők Országos Egyesülete (MMOE) részéről vannak törekvések ennek előre mozdítására, ugyanis minden évben lehetőséget biztosítanak a méhanya tenyésztőknek, hogy részt vegyenek a Mesterséges Termékenyítési Programban. A program során 8-10 tenyésztőnek van lehetősége 100-150 anya termékenyítését elvégezni (Balázs et al. 2023). A termékenyítést számos tényező befolyásolja, úgymint az ondó minősége és koncentrációja (Rousseau & Giovenazzo 2016), kezelése, tárolása (Kaftanoglu & Peng 1984, Collins 2000), a méhanyába bejuttatott mennyisége (Woyke & Jasinski 1976, Gerula et al. 2012, Slater et al. 2021), a termékenyítésre szánt anya kora (Woyke & Jasinski 1976, Bieńkowska et al. 2008, Gerula et al. 2011, Gerula et al. 2012), kezelése (Woyke 1983) és környezete is (Pettis et al. 2016).

A termékenyítés során a felhasznált ondó lehet friss, tárolt (4°C-on vagy szobahőmérsékleten) vagy mélyhűtött (Collins 2000). Utóbbi lehetőséget biztosít az örökítőanyag hosszútávú tárolására, és későbbi időpontban történő felhasználására. Az eljárás során ügyelni kell a megfelelő körülményekre (technika, hozzáadott anyag), mivel a mintákat hidegsokk, jégkristályosodás, ozmotikus stressz és lipidperoxidáció kialakulása is károsíthatja (Chatterjee & Gagnon 2001, Taylor et al. 2009, Wegener & Bienefeld 2012). Ezidáig a megfelelő spermamélyhűtési módszer még nem került kidolgozásra, de számos kutatás foglalkozik a hatékonyság növelésével, így például az anya életben maradásával a procedúra után, és azzal, hogy azok minél magasabb arányban petézzenek egészséges dolgozókat (Wegener et al. 2014, Alcay et al. 2015, Alcay et al. 2019, Alcay et al. 2022).

3.4. A pannon méh kialakulása és jellemzése, hazánkban előforduló egyéb alfajok

A mézelő méhek házasítása i.e. 3000 körül kezdődött el Egyiptomban, azonban az általuk előállított termékeket már jóval korábban hasznosította az ember (Szabó 2004). Legalább 8000 éves festmény látható az Araña-barlang falán, amelyen mézet gyűjt egy mézvadász a faüregből, miközben méhek nyüzsögnek körülötte. Az első ókori közel-keleti méhészkedést bizonyító méhkaptár maradványokat a Jordán-völgyben, Tel Rehov-ban tárták fel. A vaskorból származó leletek alapján nagymértékű méhészeti tevékenységre lehet következtetni, mivel a létesítmény nagy területen, a város közepén helyezkedett el, ahol számos henger alakú agyag kaptárt találtak, bennük lép és mézelő méh (dolgozó, here, lárva) maradványokkal (Mazar & Cohen 2007, Mazar et al. 2008, Bloch et al. 2010). Egyiptomban a mézet többek között édesítésre, sebkezelésre, illetve gyógyszerkészítésre alkalmazták az ókorban, míg a viaszt például gyógykenőcsök

összetevőjeként, valamint fogtömésekhez használták (Mazar & Cohen 2007, Bernardini et al. 2012).

Jelenleg több mint 30 alfajt lehet elkülöníteni az *Apis mellifera* fajon belül morfológiai, földrajzi, genetikai és viselkedési tulajdonságaik alapján (Ruttner 1988, Sheppard & Meixner 2003, Meixner et al. 2011, Chen et al. 2016, FAO 2018, Ilyasov et al. 2020). Az afrikai térségben 11, Nyugat-Ázsiában és a Közel-Keleten 9, míg Európában 13 alfaj fordul elő (Ilyasov et al. 2020).

Napjainkban az egyik legkedveltebb, kereskedelmi forgalomban elérhető, széles körben használt alfaj a krajnai méh (*Apis mellifera carnica*, 1. ábra), mely nyugodtabb és szelídebb a többihez képest (Guichard 2021).



1. ábra: Szlovéniából származó krajnai méh (saját fotó)

Szlovénia területén őshonos, ahol napjainkban is folyik méhanya-tenyésztés, melynek célja a vadon élő törzsek megőrzése, fenntartása. Régen a régióban olyan kaptárakat használtak, melyeket könnyen lehetett szállítani. A feljegyzések alapján már 1765-ben Szlovéniából Bécsbe lovas kocsival 40 krajnai méhcsaládot szállítottak, később, a vasút fejlődésével, az 1850-es évektől már számos helyre sikeresen juttatták el vonattal (Ruttner 1988). A balkáni alfajok között az egyik legnagyobb, teste sötét színű, tomentumja (apró, szőrszerű kiterjedés) széles és sűrű, fedőszőrzete rövid (Bakk 1955). A szipókája hosszabb, mint az olasz méhnek (Akác 1980) és a kettő hibridjének (Mohamed 1988). A lengyel és a szovjet méhek kubitális indexe (CI), vagyis az elülső szárny harmadik könyöksejtjét határoló két ér hosszának aránya nagyobb, mint a magyar egyedeké (Gubicza 1982a). A jemeni *Apis mellifera* szipókája kisebb (krajnai: 6,58 mm, jemeni: 5,51 mm),

és az első, jobb oldali szárnyhosszúsága rövidebb (11,5 %-kal) és keskenyebb (15,7 %-kal), mint a krajnai méheknek (Mohamed 1988).

A krajnai méh számos különböző geográfiai (tengerparttól az 1600 m tengerszint feletti magasságig) és éghajlati (száraz, sztyeppe-szerű síkságokon keresztül a nedves erdőig) területen elterjedt, melyeknek fő jellemzője a hosszú, hideg tél, mely gyorsan vált forró, száraz nyárra (kontinentális éghajlat) (Ruttner 1988). Az eltérő adottságú területekhez azonban máshogy alkalmazkodnak az azonos alfajhoz tartozó egyedek. Ezeket a változatokat nevezzük ökotípusnak. Ruttner (1988) a krajnai alfajon belül morfológiai bélyegek alapján két csoportot határozott meg, az alpesi és a pannon ökotípust. A későbbiekben az eltérést molekuláris genetikai módszerekkel is alátámasztották (Muñoz et al. 2009, Muñoz & De la Rúa 2021). Az előbbi Ausztria, Szlovénia és Szlovákia, az utóbbi pedig a Duna-menti területeken, Romániában, Horvátországban és Magyarországon honos (Ruttner 1988). A két ökotípus között különbség mutatkozik a mézhordási időszakban (pannon méh két főhordás, alpesi méh folyamatos), mely eredhet a különböző földrajzi elhelyezkedésből, az éghajlatból, a természetes növényzetből, és a növénytermesztésből is. Ezen felül a méztermelésben és a télállóságban is találtak különbséget, míg viselkedésben nem (Ludányi 1997).

A 188/2019. (VII. 30.) Kormányrendelet értelmében Magyarországon kizárólag azok a mézelő méhek tenyésztethetők, amelyek rendelkeznek jóváhagyott tenyésztési programmal. Ennek megfelelően jelenleg hazánkban kizárólag a pannon méh tenyésztése engedélyezett, amely a krajnai méh (*Apis mellifera carnica*) egyik ökotípusa. A magyar pannon méhet a NÉBIH Állattenyésztési Igazgatósága önálló fajtaként ismerte el a 02.5/2297-2/2012. számú határozatában, 2012. augusztus 21-én (2. ábra), 2022-ben Magyarországon pedig már az év haszonállatává választották (Convention on Biological Diversity 2022).



2. ábra: Magyarországi pannon méhek (saját fotó)

A pannon méh tenyésztését és felügyeletét a Magyar Méhtenyésztők Országos Egyesületének (MMOE) tagjai végzik (Szalay 2017). A méhanya tenyésztők minden évben kötelesek a családjából származó egyedeket morfológiai fajtaminősítésre (színezettség, szipóka hossz, kubitális index) beküldeni a Nemzeti Biodiverzitás- és Génmegőrzési Központ Haszonállat-génmegőrzési Intézetének (NBGK-HGI) Méhészeti és Méhbiológiai Osztályára. Az értékelés eredménye alapján kaphatják meg a tenyésztési engedélyt.

A pannon ökotípusra jellemző, hogy jól alkalmazkodott a helyi környezethez, kis mézfogyasztással tel, tavasszal gyorsan fejlődik, így már korán el tudja kezdeni a hordást, illetve kiváló a méztermelése, szelíd és rendkívül szorgalmas (Ambrózy 1914, Magyar Méhtenyésztők Országos Egyesülete: Pannon méh teljesítményvizsgálati kódex 2019). Kevésbé fogékony a betegségekre, jól tájékozódik (Ruttner 1988), azonban magas a rajzó hajlama a tavaszi, robbanásszerű fejlődési időszakban (Magyar Méhtenyésztők Országos Egyesülete: Pannon méh teljesítményvizsgálati kódex 2019, Szalay 2017). A mézessejtjeit barnán, „zsírosan” fedi, hasonlóan a hazánkban szintén megtalálható olasz méhhez (Bakk 1955).

Egy korábbi tanulmányban, a Magyarországon élő méhek genetikai vizsgálata során kimutatták (Péntek-Zakar et al. 2015), hogy az olasz méh mellett a sötét európai méh (*Apis mellifera mellifera*) és a Buckfast hibrid is előfordul a magyarországi állományokban.

Az olasz méhet (*Apis mellifera ligustica*) először Spinola írta le 1806-ban (3. ábra), melynek elterjedési területe Olaszország (Siebold 1856). A feljegyzések szerint Magyarországra először 1853-ban hozta be Sággy Mihály (Akác 1980).



3. ábra: Olasz méh (*Apis mellifera ligustica*) (Barbattini & Aldini 2010)

Morfológiájukat tekintve kis különbség mutatkozik a többi balkáni mézelő méhhez képest, például kisebb és szélesebb a hasuk, szipókájuk hosszabb, a kubitális index: 2,14, szőrzetük rövidebb, több erezetszögük eltérő (Ruttner 1988), és az anyák potroha aranysárga, vagy bronzszínű (Ambrózy 1914). Az európai alfajok közül az egyetlen sárga pigmentációval rendelkező méh. Jellemző rájuk, hogy a kaptár kezelése során nyugodt marad, termékeny, hajlamos nagy populációkat és mézraktárakat építeni rajzás nélkül, illetve a kevés propolisz használata (Ruttner 1988). Hátrányként említhető, hogy a táplálékszerzés a kaptár közelében történik (Ruttner 1988), nagyfokú rabló hajlammal rendelkeznek, és fogékonyabbak egyes betegségekre, például a nyúlós költésrothadásra (*American foulbrood disease* (AFB)) (Adam 1983). A fiasítás lassan kezdődik meg tavasszal, melynek csúcsa nyár vége is lehet. Gyakori náluk a téli petezés, mely eredményezhet nagyobb táplálékfogyasztást (Adam 1983). Az olasz méheket behozataluk után nagyobb előnyben részesítették a méhészetekben, mint az őshonos/honos alfajokat, úgymint a sötét európai méhet, szelídségük és termékenységük okán. Azonban ezeknek az alfajoknak a hibridjei agresszívan viselkedtek, így ennek elkerülésére kezdődtek meg az olasz méhet mellőző, mesterséges termékenyítésre irányuló kutatások (Ruttner 1988). Az olasz méhhez köthető érdekesség a partenogenezis (szűznemzés) jelenségének első tudományos megfigyelése is (Siebold 1856).

A „közönséges európai fekete” vagy „sötét európai méhet” (*Apis mellifera mellifera*, Linnaeus, 1758) vették alapul sokáig a mézelő méhek vizsgálatai során, melyről csak később derült ki, hogy csupán egy földrajzi változat (Ruttner 1988, Szalainé Mátray 2002). A sötét európai méhet a hosszú hasi fedőszőrzetéről, nagy testméretéről (a mellső szárny hossza 12,24 mm, szélessége 3,92 mm, a hátsó láb 10,1 mm), széles hasüregéről, keskeny szőrszálaairól és sötét pigmentációjáról lehet felismerni. Jellemző rájuk, hogy a kubitális indexe alacsonyabb, mint 1,85, de akár 1-nél is kisebb lehet, és a lárvák fekete színűek (Ruttner 1988). Eltérően a krajnai és az olasz méhtől, a méhészeti kezeléskor a lépet elhagyja, illetve a mézessejtjeit fehérén fedi, mivel a méz és a viaszfedő között levegő van (Bakk 1955).

A 1900-as évek elején a mézelő méh állományokban hatalmas károkat okozott a Wight-szigeti betegség. A megfigyelések szerint a fertőzés nem érintette az olaszországi olasz méheket, valamint az olasz és az angliai sötét európai méh hibridizációjából származó egyedeket, mely felvetette egy betegségekkel szemben ellenálló hibrid létrehozását (Bailey 1964, Chandler 2014). A ma is ismert Buckfast hibrid (4. ábra) nemesítése a dél-devoni Buckfast apátságban, a Dartmoor-völgyben az apátság méhészeti vezetője, Adam testvér irányításával zajlott, amelyet a hely izoláltsága tett alkalmassá erre a célra (Adam 1950).



4. ábra: Buckfast hibrid egyed (saját fotó)

Az 1950-es évektől kezdve különböző mézelő méheket vizsgált Adam testvér a világ egyes részein: Európában (Jugoszlávia, Görögország), a Közel-Keleten (Szíria), Észak-Afrikában (Marokkó), Ázsiában (Adam 1954, Adam 1964). Utazásai során megismert alfajokat, melyek részt vettek a Buckfast hibrid kialakításában: az olasz méh (*Apis mellifera ligustica*), az angol és francia sötét európai méh (*Apis mellifera mellifera*), a görög méh (*Apis mellifera cecropia*, Szalainé Mátray 2002), az anatóliai méh (*Apis mellifera anatolica*, Szalainé Mátray 2002), az egyiptomi méh. Ezeket az évek alatt az apátság méhészeiben helyezte el, ahol megfigyelte őket, hibridizációkat, keresztezéseket végzett, majd kedvező tulajdonságokra szelektált. A cél egy betegségekkel szemben ellenálló, jól kezelhető, jól telelő és termékeny vonal létrehozása volt (Chandler 2014). Adam testvér szelektációs módszere egyszerű és hatékony volt, ám munka- és időigényes, ugyanis minden egyes keresztezés után a vonal stabilizálása hosszú évekig tartott (Faugere & Dussy 2023).

Buckfast méh és királynő eladásáról már 1922-ben jelent meg hirdetés a British Bee Journal-ban, melyek számos tulajdonságukban különböztek azoktól a Buckfast méhektől, amelyeket 1981-ben Raymond Zimmer francia méhészt jegyeztetett be védjegyként a francia Nemzeti Ipari Tulajdon Intézetnél (French National Industrial Property Institute, INPI). E családok kivételes gyűjtési képességgel és akarózis elleni ellenálló képességgel rendelkeztek (Faugere & Dussy 2023).

A Buckfast hibrid negatív megítélésében szerepet játszott az a feltételezés, miszerint a helyi méhanyák és Buckfast herék pároztatásából fokozottan védekező viselkedésű, agresszív utódok jelenhetnek meg, ezt azonban Maul és munkatársai (1998) tanulmányukban cáfolták.

3.5. A pannon méh morfológiai fajtaminósítása, tenyésztési program

Hazánkban először Örösi Pál Zoltán kezdte meg a termelésben lévő méhek küllemi vizsgálatát, amikor debreceni, ukrán, német és kaukázusi méhészetekből származó egyedek szipóka hosszát hasonlította össze. Megállapította, hogy a hazai méhek szipókája hosszabb, mint a német, de rövidebb, mint a kaukázusi, és megegyezik az ukrán méhekével (Örösi 1934, Örösi 1951). Bakk az 1955-ben kiadott közleményében a hazai méhállomány egyedeit hasonlította össze krajnai, olasz és sötét európai méhekkel morfológiai bélyegek alapján. Vizsgálta többek között a szipóka hosszát, a tor és potroh színezettségét, mintázatát, a szőr hosszát, a szőröv- (szőrzetmintázat) és szárnyjelzőjét (szárnyon lévő erek mintázata, amely körül határolja a kis szárnysejteket), a viasztükrét (viaszmirigyet takaró páncélrész) és az illatpikkely alakját. Megállapította, hogy a dolgozók szárnyjelzője leginkább a krajnaiéhoz hasonlít, a szőrövjelzője az olaszéhoz, míg a szipóka hossza alapján vagy a krajnai vagy az olasz alfajhoz sorolhatóak. Ezen kívül kimutatta az idegen fajták - főleg olasz méh - hatását a hazai állományban. Rámutatott arra is, hogy nem elegendő csupán egyetlen morfológiai tulajdonság vizsgálata, mert minél több bélyeget elemeznek, annál pontosabb a kép az egyedek alfaji hovatartozását illetően. Akác az 1970-es évek végén végzett vizsgálatában 33 hazai méhcsalád egyedeinek szárnyjelzőjét, potrohának színezettségét és szipókájának hosszát hasonlította össze. Az összes vizsgált egyed átlagos szipóka hossza 6,56 mm, szárnyjelzője 2,49 volt, a potroh pedig az esetek 86 %-ában szürke színezetűnek bizonyult (Akác 1980). Egy másik munkájában összefüggést talált a napraforgó-mézhozam és a szipóka hossza között, vagyis minél hosszabb a szerv, annál magasabb volt a méz mennyisége. Ezen felül a hozamot befolyásolta a családok népességének korösszetétele és szorgalma is (Akác 1982). A szipókahossz átlaga a vizsgálatok során 6,5-6,6 mm között volt (Örösi 1934, Bakk 1955, Akác 1982, Mohamed 1988). Gubicza (1982a) a szárny kubitális indexének (CI) vizsgálati eredményei alapján megállapította, hogy az országon belül nagy változatosságot mutat, míg a horgok (a két szárny összekapcsolódását biztosító kitines képletek) száma egyenletes eloszlást jelez (Gubicza 1982b). Örösi (1934), Bakk (1955) és Akác (1980, 1982) is arra a megállapításra jutottak morfológiai vizsgálataikból, hogy a hazai állomány kevert volt.

A gödöllői Nemzeti Biodiverzitás- és Génmegőrzési Központ Haszonállat-génmegőrzési Intézetének jogelődje, az Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóközpont Méhtenyésztési Osztálya kutatási területei között szerepelt a méhlegelők, a tartástechnológia, a termelési módszerek és eszközök, illetve a méhegészségügy fejlesztése (Suhayda 1986a). További feladata volt egy jobban és gyorsabban fejlődő, nagyobb hozamot elérő (méz, propolisz), könnyen kezelhető méh nemesítése. Ennek érdekében nyomon követték az anyák napi petézését, a népességet és a mézhozamot (Suhayda 1980, Suhayda 1986b). Az átlagos napi petezés 1.113 db

volt, a legjobb anya ennek a 150 %-át teljesítette, míg a legrosszabb az 556 db-ot sem érte el. A nagyobb mézhozamot nemcsak a népességgel, hanem a hosszabb szipókával és a gyűjtő méhek nagyobb szorgalmával is összefüggésbe hozták (Suhayda 1980). Erősebb kapcsolatot mutattak ki a nagyobb méztömeg és a hosszabb szipóka között, mint a mézhozam és a szárnyindex között (Farkas & Molnár 1988).

1982-ben alakult meg a Méhanyanevelő szakcsoport, majd 1993-ban a Magyar Méhtenyésztők Országos Egyesülete (MMOE). 1976-ban a morfológiai fajtaminősítésen felül a méhanyákat tenyész értékük növelése érdekében a teljesítményük alapján is bírálták, melyet 1995-ben rendeletbe is foglaltak, amit a „Pannon méh teljesítményvizsgálati kódex” tartalmaz (Magyar Méhtenyésztők Országos Egyesülete: Pannon méh teljesítményvizsgálati kódex 2019).

A megfelelő állomány kialakítása céljából a morfológiai minősítés mellett fontos volt a teljesítmény vizsgálata is. A tesztelés egy lényeges kritériuma, hogy azonos körülmények álljanak a családok rendelkezésére. Például a méhek szorgalmát egységnyi méhtömegre vetítve kell kiszámolni a mézhozamból. A vizsgált családok népessége, és azon belül a kaptár belső feladataiban részt vevő és a gyűjtő méhek arányának, valamint a méhlegelőnek azonosnak kell lenniük, melynek megvalósítása igen nehéz (Suhayda 1986b). E tényezők azért lényegesek, mert a külső hőmérséklet befolyással lehet az anya napi peterakására, bár ennek a hatása kisebb mértékű a népesebb családoknál (Molnár et al. 1984). A virágpor mennyiségét jelentősen befolyásolja a fiasítások száma, mely kihat a nektár- és pollengyűjtő méhek arányára a megváltozott virágporigény miatt. A megbízhatóság növelése céljából javasolták a méhcsaládok más méhlegelőn való vizsgálatát is, vagy két egymást követő évben történő értékelését. A mézhozamon felül a vizsgálat fontos része a méhek rabló hajlamának és lépen maradásának bírálata is (Suhayda 1986b).

3.5.1. Üzemi saját teljesítményvizsgálat mézelő méh esetében

A vizsgálat célja, hogy a különböző termelési és viselkedési tulajdonságok alapján a méhanya-nevelő rangsort állítson fel a méhcsaládok között, melyek alapján eldönti, hogy mely családokat kívánja tovább szaporítani.

A szelekciós folyamatban legalább 40 családnak kell részt vennie, úgy, hogy az anyáknak legalább két anyai ágról kell származniuk (20-20 egyed), és az egy ágról származó egyedeknek lánytestvéreknek kell lenniük. A vizsgálat során a családoknak azonos feltételeknek kell megfelelniük, például a kiindulási népesség mérete, a keretméret és a kaptártípus tekintetében.

Az elsőéves anyákat a tél után átválogatják telelési képességük, küllemi megjelenésük és egészségi állapotuk alapján. A nyár során folyamatosan értékelik az állományt, például

viselkedésre, mézhozamra, egészségügyi állapotra, majd az évszak végén kerülnek kiválasztásra a legjobb tenyész értékkel rendelkező családok.

A vizsgálatok során figyelik a méhanya teljesítményét (napi petezés), a család viselkedését, úgymint a tavaszi népesség fejlődését és annak változását, nyugodtságát, lépen maradását, áttelelő képességét, tisztogató- és rajzó hajlamát, a család méztermelési mutatóit (mézhozam, viasztermelés) és az egészségügyi állapotát (Magyar Méhtenyésztők Országos Egyesülete: Pannon méh teljesítményvizsgálati kódex 2019).

3.5.2. Fajtabélyegek vizsgálata, a pannon méhek minősítése

Az üzemi saját teljesítményvizsgálat alapján kiválasztott családokból (minimum 5), fajtajelleg vizsgálatra mintát kell küldeni a dolgozó egyedekből (minimum 100 egyed/család) a Nemzeti Biodiverzitás- és Génmegőrzési Központ Haszonállat-génmegőrzési Intézetének Méhészeti és Méhbiológiai Osztályára. A méhanya csak az eredmények ismeretében kaphat törzskönyvi számot és vonható be a tenyésztésbe, amennyiben megfelelt a követelményeknek.

A küllemi bírálat során a dolgozó méhek színét, szárnyindexét (kubitális index, CI), és a szipóka hosszát vizsgálják.

Az első bélyeget az 1-4. potrohszelvény (tergit) világos (sárga) színének aránya alapján értékeli (5. ábra).

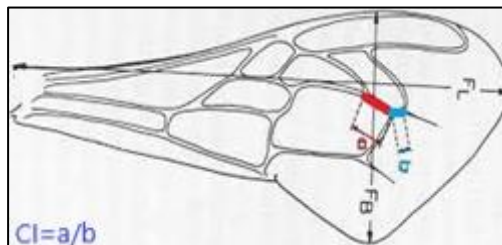


5. ábra: A pannon méh potrohának színezettsége (Magyar Méhtenyésztők Országos Egyesülete: Pannon méh teljesítményvizsgálati kódex 2019)

A szín kialakulására legalább hét gén van hatással (Roberts & Mackensen 1951), poligén öröklődésű. A pannon méh potrohának színe sötét, jellegzetesen váltakozó világosszürke, széles szőrövek és sötét tergitesíkok mintázzák. Elfogadható, ha az 1. és 2. tergiten kétoldalt világos szín jelenik meg, melynek mértéke nem haladja meg a 20 %-ot. Ha ennél nagyobb mértékben van jelen

a világos szín, akkor az hibának számít. Ha a 3. és a 4. tergiten jelenik meg a sárgás szín, akkor a morfológiai minősítés szabályai alapján azt a méhanyát ki kell zárni a tenyésztésből (Zakar et al. 2013, Magyar Méhtenyésztők Országos Egyesülete: Pannon méh teljesítményvizsgálati kódex 2019).

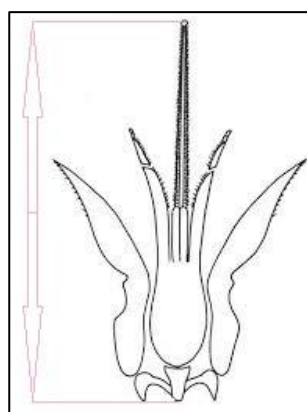
A második szempont, ami alapján értékelik a dolgozókat, az a kubitális index, mely az elülső szárny harmadik könyöksejt két ereinek egymáshoz viszonyított aránya (6. ábra).



6. ábra: A pannon méh morfológiai minősítése kubitális index (CI) alapján (Magyar Méhtenyésztők Országos Egyesülete: Pannon méh teljesítményvizsgálati kódex 2019, Zakar et al. 2013)

A szárnyjellemzők öröklődése magas (Moritz & Klepsch 1985), illetve hasonlóan a potroh színéhez, poligénus (Ruttner 1988). A jobb és a bal oldali szárny esetében nincsen lényeges különbség (Gubicza 1982a). A szárnyakat tárgylemezre tojásfehérje segítségével rögzítik, majd a száradást követően mérik le. A hazánkban honos fajtára jellemző érték 2,3 és 3,2 közé esik (Zakar et al. 2013, Magyar Méhtenyésztők Országos Egyesülete: Pannon méh teljesítményvizsgálati kódex 2019).

A szipóka hossza (*proboscis: submentum+mentum+glossa*) a harmadik morfológiai tulajdonság, amely alapján következtetni lehet arra, hogy az adott méhegyed megfelel-e a követelményeknek (7. ábra).



7. ábra: A pannon méh morfológiai minősítése szipókahossz alapján (Magyar Méhtenyésztők Országos Egyesülete: Pannon méh teljesítményvizsgálati kódex 2019)

A szipóka egy módosult, cső alakú szájszerv, mely szűrésre és szívásra alkalmas. Annak érdekében, hogy a vizsgálatra alkalmas kiöltött állapotban legyen, néhány másodpercre forró vízbe helyezik a mintákat (Bakk 1955). A szervet a mérésig alkoholban tárolják, hogy elkerüljék a száradás okozta méretcsökkenést. A mérés előtt tárgylemezre helyezik és celluxszal rögzítik, majd a szerv hosszát 17-szeres nagyítás alatt mérik le mikrofilmolvasó és a hozzá tartozó vonalzó segítségével. A pannon méh esetében az elfogadott méret 6,50-6,82 mm (Zakar et al. 2013, Magyar Méhtenyésztők Országos Egyesülete: Pannon méh teljesítményvizsgálati kódex 2019).

3.6. Molekuláris genetika a méhek világában

A mézelő méhek fajtáinak elkülönítésére számos vizsgálat indult, melyek során először morfológiai bélyegek alapján próbálták azokat elkülöníteni (Örösi 1934, Ruttner 1988), majd a tudomány fejlődésével genetikai módszerek alkalmazása is lehetővé vált (Bouga et al. 2005a).

3.6.1. Restrikciós fragmenthossz polimorfizmus (RFLP)

A restrikciós fragmenthossz polimorfizmus (Restriction Fragment Length Polymorphism - RFLP) módszert először 1974-ben alkalmazták adenovírus mutáció térképezéshez (Grodzicker et al. 1974).

A restrikciós enzimek különböző hosszúságú fragmenteket képeznek úgy, hogy a DNS egy specifikus helyén endonukleolitikus hasításokat végeznek. A keletkezett szekvenciák a méretük miatt a gélelektroforézis során elkülönülnek egymástól és detektálhatóvá válnak az esetleges különbségek a minták között. A különbségek adódhatnak egy vagy több bázis eltéréséből, mely miatt egy új hasítási hely alakul ki, vagy veszik el, illetve a fragmentumon belül történő DNS szakasz inszerciója vagy delécioja okán, mely méretbeli különbséget eredményez. Az első időkben Southern blot-ot (Southern 1975, Botstein et al. 1980), azonban napjainkban PCR alapú eljárást használnak a kimutatáshoz.

Az RFLP markerek közepesen polimorfak, gyakoriak, kodominánsan öröklődnek, jól reprodukálhatók, és magas öröklődőképesség, valamint lókuszt specifikus tulajdonság jellemzi őket. A módszer hátrányai közé tartozik, hogy időigényes, költséges, és nagy mennyiségű, jó minőségű genomi DNS-t igényel, valamint előzetes információkat kíván a genomról. Továbbá, radioaktív vagy toxikus reagensek használatát is megkövetelheti, ezért a kutatásokban kevésbé népszerű (Agarwal et al. 2008).

A módszer alkalmazásához köthető az emlősök mitokondriális DNS-e anyai öröklődésének detektálása (Hutchison et al. 1974), de a polimorfizmusok kimutatására (Hurtado et al. 2001), populációgenetikai vizsgálatokra (Bouga et al. 2005b, Özdiş et al. 2009), alfajok

megkülönböztetésére (Szalanski & Tripodi 2014, Wu et al. 2017) és a géntérképezés területén is használják (Botstein et al. 1980, Kiss et al. 1993).

3.6.2. Véletlenszerűen felszaporított polimorf DNS (RAPD)

A véletlenszerűen felszaporított polimorf DNS (Random Amplified Polymorphic DNA - RAPD) módszer lényege, hogy véletlenszerűen kiválasztott, kb. 10 bp hosszú oligonukleotidok feltapadnak a kötődési helyükre alacsony hőmérséklet (40 °C alatt) mellett a PCR eljárás során (Williams et al. 1990). Ha a primerek elég közel kötődnek egymáshoz, úgy az eltérő méretű fragmentumokat eredményez (10-21 db), melyeket agaróz gélelektroforézis segítségével értékelni lehet (Scott et al. 1992, Lynch & Milligan 1994).

Az amplifikált DNS fragment mintázatában változást okozhat bizonyos esetekben már egy nukleotidos eltérés is, de eltérést indukálhat a primer kötődési helyén bekövetkezett delécio, vagy inszercio, mely a fragmentumok meghosszabbodását eredményezheti. Ha a primerkötődési helyek nagymértékben eltávolodnak egymástól, akkor nem történik amplifikáció.

A markerekre jellemző, hogy közepesen polimorfak, gyakoriak és dominánsan öröklődnek (Williams et al. 1990, Hunt & Page 1992, Agarwal et al. 2008).

Az eljárás előnye, hogy gyors, alacsony költségigényű, egyszerűen alkalmazható, automatizálható, és nem szükséges a genom előzetes ismerete, így a különböző fajoknál ugyanaz az oligonukleotid készlet használható (Williams et al. 1990, Bardakci 2001). A RAPD az RFLP-vel szemben abban a tekintetben kedvezőbb, hogy hatékonyabban és nagyobb markersűrűséggel készíthetők genetikai térképek (Williams et al. 1990).

A módszer hátránya, hogy a recesszív-domináns öröklődésmenetnél nem lehet megkülönböztetni a heterozigóta és a homozigóta genotípust (Williams et al. 1990), és érzékeny a reakció körülményekre, ami megnehezíti az ismételhetőséget és az összehasonlíthatóságot (Bardakci 2001).

A módszer alkalmazható a genetikai térképezésben (például virágpor összegyűjtésére vonatkozó viselkedés (Hunt et al. 1995)), a populációgenetikai vizsgálatokban (Lynch & Milligan 1994, Bouga et al. 2005b, Török 2008, Tunca 2009, Tunca & Kence 2011), a variabilitás és beltenyésztettség felmérésére (Williams et al. 1990), a szülő-utód azonosításban (Scott et al. 1992), a kapcsoltsági térkép, öröklődési mintázatát megfigyelésében (Hunt & Page 1992), az alfajok megkülönböztetésében (Suazo 1998) és az ivar meghatározásban (Hunt & Page 1994).

3.6.3. Amplifikált fragmenthossz polimorfizmus (AFLP)

Az amplifikált fragmenthossz polimorfizmus (Amplified Fragment Length Polymorphism - AFLP) kidolgozásának egyik célja volt, hogy kiküszöböljék a RAPD módszer bizonytalan reprodukálhatóságát (Vos et al. 1995).

A folyamat során a genomot két restrikciós endonukleázzal hasítják, majd oligonukleotid adaptereket ligálnak a fragmentumok végéhez. A következő lépésben olyan primereket terveznek, amelyek az adapter és a restrikciós helyek szekvenciáihoz kötődnek, így lehetővé válik a szelektív amplifikáció a PCR eljárás alatt. Egyszerre körülbelül 50-100 sávot lehet detektálni poliakrilamid gélen. Az amplitonok száma a primer kombinációban lévő szelektív nukleotidok számától és motívumaitól, a GC tartalomtól, valamint a genom méretétől és komplexitásától függ (Agarwal et al. 2008).

A módszer előnye, hogy nincs szükség a genom előzetes ismeretére, ezen felül jellemző a markerre, hogy közepesen polimorf, gyakori, nagyszámú genetikai eltérést képes egyszerre kimutatni, általában dominánsan öröklődik, és magas a reprodukálhatósága (Suazo & Hall 1999, Agarwal et al. 2008).

Az eljárás alkalmazható géntérképezésre (mézelő méh táplálékkereső viselkedésének szabályozásában (Rüppell et al. 2004)), tájékozódási pontnak (genetikai, fizikai térképezésben) (Agarwal et al. 2008), metiláció érzékenység megfigyelésére (Kilaso et al. 2016), azon kívül az egyedek alfaj szintű megkülönböztetésére (Suazo & Hall 1999), és a variabilitás felmérése (Suazo & Hall 1999).

Egy vizsgálat során az RFLP, a RAPD és az AFLP eljárások genetikai variabilitás kimutatásának hatékonyságát hasonlították össze, ahol mindhárom módszer alkalmasnak bizonyult a fajták elkülönítésére ismert földrajzi eredetük szerint. Az elemzés során az AFLP azonosította a legtöbb polimorfizmust, míg a RAPD kétszer annyit, mint az RFLP (Hurtado et al. 2001). Azonban a dominánsan öröklődő tulajdonságú markerek (RAPD, általában AFLP) esetében ugyanolyan minőségű statisztikai eredmény eléréséhez lókuszonként 2-10-szer több egyedet szükséges bevonni a vizsgálatba, mint a kodomináns markereknél (például RFLP, ritkán AFLP) (Lynch & Milligan 1994, Suazo & Hall 1999).

3.6.4. Mitokondriális DNS (mtDNS)

A mézelő méhekben a mitokondrium örökítőanyaga megközelítőleg 16-17 ezer bázispár hosszúságú, kör alakú (8. ábra), mely főleg anyai ágon öröklődik, viszonylag rekombinációmentes, így kiválóan alkalmas az eredet vizsgálatokhoz (Olivo et al. 1983, Cann et al. 1984,

Wilson et al. 1985, Moritz et al. 1987, Crozier & Crozier 1993, Meusel & Moritz 1993, Cameron 2014).



8. ábra: Az *Apis mellifera* mitokondriális genomjának térképe: *COI* és *16S* gének, tRNA_{Leu-cox2} intergénikus régió (*COI-COII*) (Crozier & Crozier 1993)

Az első mézelő méh teljes mtDNS szekvenciáját 1993-ban publikálták (Crozier & Crozier 1993), melyet követően számos alfaj esetében szintén megtörtént a genetikai feltárás, például kaukázusi (*Apis mellifera caucasica*), szíriai méh (*Apis mellifera syriaca*) (Haddad 2015, Ilyasov et al. 2019). Ennek következtében lehetőség nyílt összehasonlító vizsgálatok elvégzésére.

Számos vizsgálat irányult a mézelő méh alfajainak elkülönítésére, megkülönböztetésére a mtDNS különböző szakaszai által (De la Rúa et al. 1998, Radoslavov et al. 2017, Moškrič et al. 2022). Ilyen például a citokróm-oxidáz I., II., III. gének (*COI* (*COX1*), *COII*, *COIII*), melyek a mitokondriális légzési lánc végkatalizátorai (Saraste 1990), az rRNS gének (Péntek-Zakar 2014) vagy az AT-ben gazdag tRNA_{Leu-cox2} intergénikus régió (*COI-COII*) (Garnery et al. 1992).

A módszer, sajátosságainak köszönhetően alkalmas az egyedek és populációk származásának meghatározására, az időbeli távolságok becslésére, a vándorlási útvonalak feltérképezésére, a populációk palacknyak hatásának kimutatására (Wilson et al. 1985, Cherevatov et al. 2019, Tihelka et al. 2020), valamint a genetikai diverzitás és a populációméretetek változásának elemzésére. Emellett lehetőséget ad a pozitív szelekció megállapítására is (Tajima 1989, Fu 1997, Khan 2021).

A mitokondriális DNS vizsgálatok alapján napjainkig a mézelő méh alfajokat különböző evolúciós vonalakba sorolják be. Az *Apis mellifera* feltételezhetően Észak-Afrikából vagy a Közel-Keletről származik morfológiai (Ruttner et al. 1978) és molekuláris (Cridland et al. 2017) vizsgálatok alapján. Az eredmények szerint a faj legalább két útvonalon keresztül terjedhetett el

Európában: a Gibraltári-szoroson át, illetve Törökországon keresztül (Tihelka et al. 2020) (9. ábra).



9. ábra: *Apis mellifera* alfajok feltételezett evolúciós eredete és elterjedési útvonalai (Tihelka et al. 2020)

A fekete nyilak jól alátámasztott kapcsolatokon alapulnak, míg a szaggatott szürke nyilak feltételezett elterjedési útvonalakat jelölnek. A, M, O, C, S, Y: evolúciós vonalak.

A jelenleg elfogadott besorolás szerint az A vonalba főleg az afrikai (Ruttner 1988, Garnery et al. 1992, Garnery 1995, De la Rúa 1998, Shaibi et al. 2009), a C vonalba az észak-mediterrán (Ruttner 1988, Garnery et al. 1992, De la Rúa 1998, Muñoz et al. 2009, Cherevatov et al. 2019), a M vonalba a nyugati- és észak-európai (Garnery et al. 1992, Garnery 1995), míg az O vonalba a közép-keleti és a kaukázusi (Franck et al. 2000, Franck et al. 2001, Shaibi et al. 2009, Tihelka et al. 2020) alfajok tartoznak. További, elfogadásra javasolt vonalak közé tartozik az L vonal, amely az egyiptomi (Dogantzis et al. 2021), az Y vonal, ami az etióp (Franck et al. 2001), az S vonal, ami a szíriai, libanoni és iraki (Alburaki et al. 2011, Alburaki et al. 2013), valamint az U vonal, amely a madaraszkári méhpopulációkat foglalja magába (Tihelka et al. 2020). Az A vonalba tíz, a Z és M vonalakba egyaránt három, a C vonalba további tíz, az O vonalba három, míg az Y vonalba egy alfaj sorolható. Emellett három további alfaj besorolása az O és C vonalak között jelenleg nem egyértelmű (Ilyasov et al. 2020). Az A vonal alfajai parafiletikus (alacsony megbízhatósággal), míg az O és C vonalak monofiletikus csoportot alkotnak (magas megbízhatósággal) (Tihelka et al. 2020). Egyes tanulmányokban a Magyarországon is honos krajnai méhet (*Apis mellifera carnica*)

a C evolúciós vonalba sorolták (Péntek-Zakar et al. 2015, Moškrič et al. 2022), de oda tartozik például az *Apis mellifera ligustica*, *Apis mellifera macedonica* és *Apis mellifera cecropia* is (Muñoz & De la Rúa 2021).

A C evolúciós vonal természetes módon terjedt el a Balkán-félszigeten, a Duna síkságain, az Appennini-félszigeten és Ukrajna különböző területein. Az ide tartozó egyedek jelenlétét kimutatták többek között Olaszországban, Ausztriában, Szlovéniában, Magyarországon, Horvátországban, Bosznia-Hercegovinában, Montenegróban, Romániában, Szerbiában, Albániában, Macedóniában, Bulgáriában és Görögországban (Muñoz & De la Rúa 2021). A csoporton belül mtDNS vizsgálatok alapján több különböző haplotípust különítettek el: C1a, C2b, C2c, C2d, C2db, C2dc, C2e, C2i, C2j, C2l, C2o, C2p, C2q, C2r, C2s, C2t, C2u, C2v, C2w, C2x, C2y, C2z, C2aa, C2ab, C2ac, C2ad, C2ae, C2af, C2ag, C2ah, C3a (Franck et al. 2000, Sušnik et al. 2004, Muñoz et al. 2009, Muñoz & De la Rúa 2021, Patenković et al. 2022, Alburaki et al. 2023).

3.6.5. Mikroszatellit (SSR)

A mikroszatellitek (Simple Sequences Repeats, Short Tandem Repeats - SSR) rövid (1-4 bázispár) ismétlődő szekvenciák, melyek elszórtan fordulnak elő az eukarióta, és bizonyos prokarióta genomokban (Tautz & Renz 1984, Greaves & Patient 1985, Tautz 1989). Az ismétlődő egységek számának változásában főként a DNS polimeráz enzim szálcúsítása felelős a DNS megkettőzésekor (Tautz 1989, Schlötterer & Tautz 1992).

A mikroszatellitek kodomináns öröklődésűek, nagy számban fordulnak elő a genomokban magas diverzitás mellett, eredményei viszonylag jól reprodukálhatóak (Agarwal et al. 2008).

A hosszpolimorfizmus vizsgálata lehetőséget biztosít a specifikus DNS szekvenciák generációkon keresztül történő nyomon követésre, természetes szelekció kimutatására (Saghai Maroof et al. 1994), genetikai diverzitás meghatározására (Muñoz et al. 2009, Tanasković et al. 2021), fajták elkülönítésére (Štastný et al. 2017), introgresszió kimutatására, különböző evolúciós vonalakhoz tartozó fajták differenciálására (Ilyasov et al. 2016), genomterképezésre, egyedek populációkon belüli és közötti rokonsági vizsgálatára (Tautz 1989), valamint kapcsoltsági vizsgálatokra (Litt & Luty 1989).

Az eljárás elvégzéséhez közepes szintű technikai felszereltség szükséges, melynek eredménye a fragmentek mérete alapján könnyen értékelhető. A genotipizálás során a PCR analíziskor a primerek lehetnek lokusz specifikusak, jelöltek (radioaktívan, fluoreszcensen) vagy jelöletlenek. Az PCR termékek detektálása poliakrilamid gélen, általában automata szekvenátor használatával történik (Wenz et al. 1998, Agarwal et al. 2008). Az idő- és költséghatékonyság érdekében multiplex marker szettek is kialakíthatóak, akár a PCR reakciókon belül, akár

fluoreszcensen jelölt primerek használatával, így egyszerre több markerrel is történhet a genotipizálás.

A fluoreszcensen jelölt primerek használata költséges, amely csökkenthető úgynevezett farkas primerek alkalmazásával, amikor nem közvetlenül jelölt primerekkel dolgoznak, hanem azok forward szekvenciájának 5' vége elé különböző fluoreszcens festékekkel jelölt univerzális szekvenciát illesztenek (Schuelke 2000, Blacket et al. 2012).

3.6.6. Egy pontos nukleotid polimorfizmus (SNP)

Az SNP (Single Nucleotide Polymorphism) a genom szekvenciájában történt egynukleotidos variáció, pontmutáció, általában csak két allélváltozata létezik. Ez a leggyakrabban előforduló molekuláris marker a genomban, amely bármely élő szervezet esetében alkalmazható a Földön (Kwok & Chen 2003). Előfordulása és eloszlása fajonként eltérő (kukoricában 1/60-120 bp (Ching et al. 2002), emberben 1/1000 bp (Landegren et al. 1998, Sachidanandam et al. 2001). Az SNP-k jelen vannak mind a kódoló, mind a nem kódoló régiókban. Az előbbi esetben okozhat változást a fehérje átírásban, vagy az mRNS splicing folyamatában, ami fenotípusos különbséghez vezethet (Richard & Beckman 1995, Sunyaev et al. 1999).

A genotipizálási eljárás alapulhat például az allélspecifikus hibridizáción, a primer meghosszabbításon, az oligonukleotid ligáción és az invazív hasításon (Sobrinho et al. 2005). A módszerek fejlődése révén lehetővé vált több tízezer SNP genotipizálása több ezer egyed esetében. Míg a korai SNP analízis idő- és munkaigényes, valamint költséges volt, később ez a módszer automatizálttá, hatékonytá és megfizethetőbbé vált (Kwok & Chen 2003).

A polimorfizmusok detektálása történhet például újgenerációs szekvenálással (NGS, Next Generation Sequencing), vagy SNP chippel (microarray) (Kwok & Chen 2003, Agarwal et al. 2008). Az így kapott óriási adatmennyiség feldolgozásához azonban a megfelelő bioinformatikai rendszer, szakmai tudás és számítógépes kapacitás megléte elengedhetetlen (Kwok & Chen 2003).

Az SNP-k kimutatására széles körben alkalmazzák a chip alapú technológiákat, melyek néhány száztól több millió SNP detektálására is alkalmasak mintánként. Ilyen technológia például az Affymetrix (<http://www.affymetrix.com>) által fejlesztett GeneChip™ és GenFlex™ Tag microarray, valamint az Illumina (<http://www.illumina.com>) BeadXpress™ (48-384 SNP), GoldenGate™ (384-3702 SNP), illetve Infinium High Density® (3000-5 millió SNP). Ezek azonban kevésbé lehetnek hatékonyak olyan alkalmazási területeken, ahol kis vagy közepes számú SNP kimutatása szükséges nagy mintamennyiség esetében, így például QTL (Quantitative Trait Locus) térképezés, MABC (Marker Assisted Backcrossing) vagy MARS (Marker Assisted Recurrent Selection) során. Ilyen esetekben célszerűbb uniplex (single-plex) SNP genotipizáló platformokat használni, mint például a TaqMan™ (<http://www.appliedbiosystems.com>), a

Pyrosequencing™, illetve a KASP™ (Kompetitive Allele Specific PCR, <http://www.lgcgenomics.com>). Korlátozott számú SNP detektálására további megfelelő platformok a SNaPshot™ (10 SNP, <http://www.appliedbiosystems.com>), valamint a Sequenom MassARRAY iPLEX Gold® (10-400 SNP, <https://www.cd-genomics.com>) (Low et al. 2006, Royo & Galán 2009, Neelam et al. 2013, Semagn et al. 2014).

A mikroszatellit markerekkel összehasonlítva egy SNP információtartalma kisebb (biallélos rendszer), ugyanakkor a genomban jóval nagyobb számban fordulnak elő, és viszonylag egyenletes eloszlást mutatnak. Általánosan elfogadott, hogy öt SNP információtartalma megközelítőleg egy mikroszatellit markerének felel meg, utóbbiak magas mutációs rátája miatt. Azonban nagyszámú SNP egyidejű vizsgálatával pontosabb és részletesebb képet kaphatunk a genetikai variabilitásról (Beuzen et al. 2000). Az SNP öröklődése stabilabb, ezért alkalmasabb a hosszútávú szelekció nyomon követésére, és a nagy áteresztőképességű genetikai elemzésekre (microarray) (Lipshutz et al. 1999).

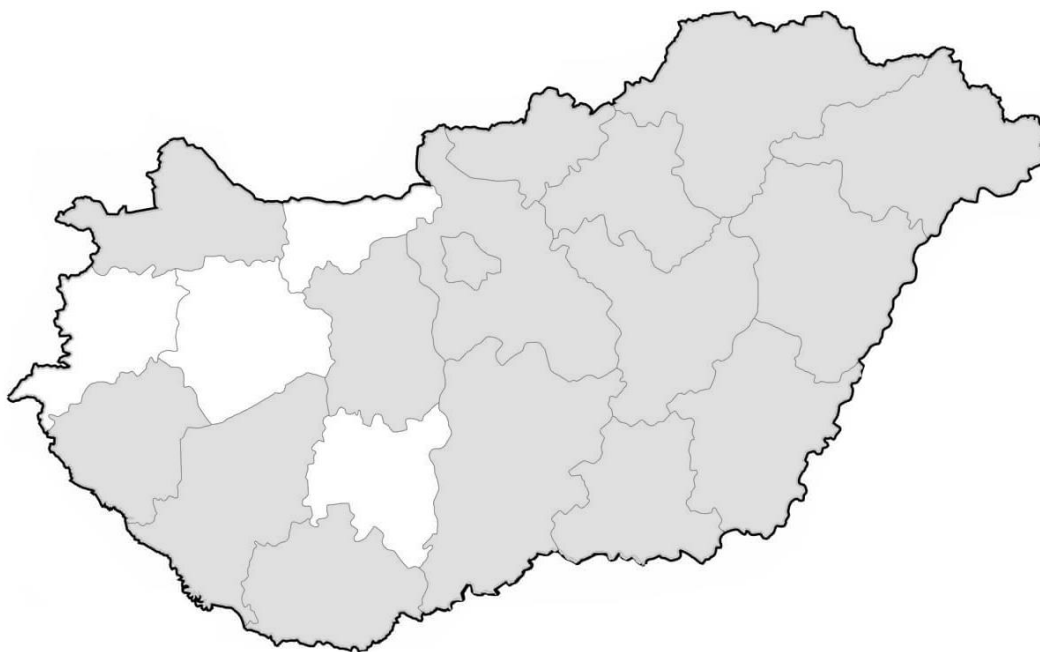
A mézelő méhek teljes genom szekvenálása 2006-ban valósult meg egy együttműködési kutatás során (The Honeybee Genome Sequencing Consortium 2006). Azóta számos kutatási területen alkalmazzák, úgymint az introgresszió mértékének becslésére (Pinto et al. 2014, Henriques et al. 2018), a genetikai diverzitás elemzésére, genomszelekcióra (Pinto et al. 2014, Lukic et al. 2024), az evolúciós eredet meghatározására (Momeni et al. 2021), a fajták azonosítására, elkülönítésére (Parejo et al. 2016, Gmel et al. 2023, Minozzi et al. 2021) és QTL térképezésre (például Varroa-tolerancia) (Spötter et al. 2012, Wragg et al. 2016).

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

A 40/2013. (II. 14.) Kormányrendelet szerint mézelő méheken végzett kísérletekhez nincs szükség állatkísérleti engedélyre.

4.1. A vizsgálatban részt vevő méhcsoporthoz kialakítása

A vizsgálataim alapjául kifejtett, dolgozó méh egyedek szolgáltak, melyeket a méhanyatenyésztők kora ősszel küldtek a Nemzeti Biodiverzitás- és Génmegőrzési Központ Haszonállat-génmegőrzési Intézetének Méhészeti és Méhbiológiai Osztályára morfológiai fajtaminősítés céljából. A beérkezett minták közül azon tenyésztők egyedei kerültek be a vizsgálatba, amelyek esetében hivatalos engedély volt felhasználásukra, hozzájárulási nyilatkozat aláírásával (10. ábra).



10. ábra: Mintáik felhasználásához hozzájáruló pannon méhanya tenyésztők Magyarországon vármegyékre vetítve (szürke szín)

A mitokondriális DNS és a mikroszatellit analízis során négy csoport és összesen 144 minta került feldolgozásra. Az első csoportot olyan egyedek alkották, amelyek a Magyar Méhtenyésztők Országos Egyesülete (MMOE) méhanya nevelő állományából származtak, illetve családjaik több éven keresztül megfeleltek a hivatalos morfológiai fajtaminősítés követelményeinek (MF). A minták 16 tenyészetből érkeztek, és meglehetősen jól lefedték Magyarország jelentős méhészeti régióit. Minden olyan vármegyéből vontam be mintákat, ahol jelentős mértékű méhészkedés folyik, illetve törekedtem arra is, hogy minden vármegyéből legalább egy méhanya tenyésztő állományából származó minta is szerepeljen. Minden méhészetből 4 család, családonként 1 egyed, vagyis 64 minta került be a vizsgálatba. A második csoportba a morfológiailag nem megfeleltnek

minősített családok egyedei kerültek (NMF). Főként a potroh színe alapján történt az egyedek kiválasztása (egy és két sárga csíkos színezet), a korábbi évek fajtaminősítési eredményeit is figyelembe véve. Az NMF csoportba 8 méhanya tenyésztő 1-1 családjának 4-4 egyede, azaz összesen 32 minta került be a tanulmányba. Fontos megjegyezni, hogy a morfológiai hibával rendelkező NMF egyedek nem ugyanazokból a családokból származtak, mint az MF csoport fajtastandardnak megfelelt pannon méhei. Az egyedek kiválasztása során még arra is külön figyelmet fordítottam, hogy azon tenyésztőktől, akiknél a fenotípusos vizsgálat során nem megfelelt minősítésű családokat azonosítottak, ne vonjak be mintát a fajtastandardnak megfelelt MF csoportba, még abban az esetben sem, ha az adott egyed egyébként megfeleltnek minősített családból származott. Ezeken felül egy referencia csoport (REF) került kialakításra, amely Buckfast hibrideket (16 egyed/4 család), olasz méh × Buckfast hibrid (8 egyed/1 család) egyedeket, valamint olasz méheket (8 egyed/1 család) (*Apis mellifera ligustica*) tartalmazott. Végül a negyedik csoportba két, más európai országokból származó (Ukrajna, Szlovénia) krajnai méh állományok egyedei (*Apis mellifera carnica*, KRAJ) tartoztak, 1-1 családból 8-8, vagyis összesen 16 minta (1. táblázat).

1. táblázat: A mitokondriális DNS és a mikroszatellit marker analízis során vizsgált minták eloszlása csoportonként, méhészetenként és családonként

	Mintasám	Méhészet	Család/méhészet	Minta/család
	darab			
MF	64	16	4	1
NMF	32	8	1	4
REF	32	4	2	4
KRAJ	16	2	1	8

MF – fajtastandardnak megfelelt pannon méhek, NMF – morfológiailag hibás pannon méhek, REF – Buckfast hibrid, olasz méh x Buckfast hibrid, és olasz méh alfajok egyedei, KRAJ – más Európai országokból származó krajnai méhek

A teljes genom szekvenálásra 87 méh került kiválasztásra a fent leírt 144 egyedből. Leginkább a morfológiailag megfelelt pannon méh minták számát kellett anyagi okokból csökkenteni, mely a mikroszatellit analízis eredményei alapján történt. A kiválasztásnak két fő kritériuma volt: az egyik, hogy az egyed minél több olyan alléllal rendelkezzen, melyek kizárólag az MF csoportban fordultak elő, ennek meghatározása a Microsatellite Toolkit program (Park 2001) segítségével történt. A másik a főkoordináta elemzés (Principal Coordinate Analysis – PCoA, GenAlEx 6.5 program, molekuláris varianciaanalízis (AMOVA)) eredménye, amely

egyedek közötti genetikai távolságokat jelenít meg (Peakall & Smouse 2006, Peakall & Smouse 2012). Olyan egyedek kerültek kiválasztásra, melyek közül az ábrán az egyik a tengelyek metszéspontjához minél közelebb, a másik pedig minél távolabb helyezkedett el. Az NMF és REF csoportokba a fentebb leírt 32-32 minta majd minden egyede szerepelt, a csoportok közötti mintaszám kiegyenlítetttsége miatt azok vizsgálati egyedszáma 29-29 mintára korlátozódott, melyek mindegyike részt vett a mitokondriális DNS és a mikroszatellit analízisben is. A krajnai méhek (KRAJ) csoportja nem szerepelt a teljes genom szekvenálásra kiválasztott mintakollekcióban, mert négy csoport együttes elemzésére már nem volt anyagi kapacitás. A krajnai méhek REF csoporttal való összevonása pedig gyaníthatóan torzította volna az eredményeket, miután a pannon méh a krajnai alfaj egyik ökotípusa (2. táblázat).

2. táblázat: A teljes genom szekvenálás során elemzett minták eloszlása csoportonként, méhészetenként és családonként

	Alfaj	Mintaszám	Méhészet	Család/méhészet	Minta/család
			darab		
MF	pannon méh	29	14	2	1
			1	1	1
NMF	pannon méh	29	7	1	4
			1	1	1
REF	Buckfast-hibrid	29	4	1	4
	olasz méh x Buckfast hibrid		1	1	7
	olasz méh		1	1	6

MF – fajtastandardnak megfelelt pannon méhek, NMF – morfológiailag hibás pannon méhek, REF – Buckfast hibrid, olasz méh x Buckfast hibrid, és olasz méh alfajok egyedei

4.2. Genomi DNS izolálása és egalizálása

A genomi DNS izolálását (11. ábra) a Latorre és munkatársai (1986) által kidolgozott módszer módosított változata alapján végeztem el az alábbiak szerint:

1. A kifejtett egyedekről a hátsó két láb és a potroh eltávolítása, majd a megmaradt testrész mechanikai roncsolása aprítással.
2. A minták Eppendorf csövekbe helyezése, majd 160 μ l Méh puffer I. hozzáadása (100 ml oldat: 0,12 g Tris-HCl, 2 ml EDTA oldat (pH 8), 0,35 g NaCl és 5 g szacharóz (pH 7,8)), vortexelés.
3. 100 μ l Méh puffer II. (100 ml oldat: 3,63 g Tris-HCl, 2 ml EDTA oldat (pH 8), 1,25 g SDS (Nátrium lauril szulfát) és 5 g szacharóz (pH 9)) hozzáadása a mintákhoz, vortexelés. A minták inkubálása 65 °C-on, 1 órán keresztül.
4. 60 μ l kálium-acetát oldat hozzáadása a mintákhoz, vortexelés, 30 perc inkubálás szobahőmérsékleten, majd 15 perc centrifugálás 13.000 rpm fordulatszámon, szobahőmérsékleten.
5. 300 μ l felülúszó hozzáadása 300 μ l izopropanolhoz, 5 perc inkubálás szobahőmérsékleten, majd az elegy többszöri átforgatása.
6. 10 perc centrifugálás 13.000 rpm fordulatszámon, szobahőmérsékleten.
7. A felülúszó eltávolítása, majd 500 μ l 70 %-os etil-alkohol hozzáadása a mintákhoz, átforgatás, 5 perc centrifugálás 13 000 rpm fordulatszámon, szobahőmérsékleten, majd az alkoholos mosás ismétlése kétszer.
8. Felülúszó eltávolítása, a minták beszáritása szobahőmérsékleten 1 órán keresztül.
9. A DNS visszaoldása 60 μ l TE (TRIS-EDTA) pufferben, inkubálása 37 °C-on overnight.



11. ábra: A dolgozó méh egyedek feldolgozásának folyamata: minta kiválasztása; mechanikai roncsolása; DNS kivonás (saját fotók)

A DNS mennyiségi és minőségi ellenőrzése NanoDrop 2000c spektrofotométer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) használatával történt, majd a mintákat egységes

töménységűre egalizáltam: mikroszatellit analízis esetében 6 ng/μl, míg a mitokondriális és az SNP vizsgálatok esetén 30 ng/μl volt a DNS felhasználási koncentrációja.

4.3. Mitokondriális DNS vizsgálat

A mtDNS három eltérő régióján (citokró-m-oxidáz I. (*COI*) gén, rRNS (*16S*) gén, tRNA_{Leu-cox2} intergénikus régió (*COI-COII*)) végeztem a vizsgálatot. A kapott eredmények alapján kerültek detektálásra a haplotípusok, amelyeket a nukleotid szintű eltérések összessége alkot. A mitokondriális DNS diverzitásának meghatározása a *COI* és a *16S* gének, míg az evolúciós eredet felderítése a tRNA_{Leu-cox2} intergénikus régió (*COI-COII*) alapján történt. A *COI* gén esetében az alábbi primereket használtam fel az amplifikáció során: forward: 5'-CTGATATAGCATTCCCCCGAATA-3') és reverse (5'-AGAATTGGATCTCCACGTCCTA-3') (Péntek-Zakar et al. 2015). A *16S* gén esetében a forward: 5'-ACATCGAGGTCGCAAACATC-3', a reverse pedig az 5'-TTAGGTCGATCTGCTCAATGAA-3' primereket alkalmaztam (Péntek-Zakar 2014), míg a tRNA_{Leu-cox2} intergénikus régió (*COI-COII*) vizsgálatánál az E2 forward (5'-GGCAGAATAAGTGCATTG-3') és a H2 reverse primerek (5'-CAATATCATTGATGACC-3') szolgáltak az amplifikáció alapjául (Garnery et al. 1992, Magnus et al. 2014).

A PCR reakciókat 20 μl végtérfogatban mértem össze, mely 10x Dream Taq puffert (20 mM MgCl₂, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), 5 μM primert, 0,2 mM dNTP mixet (dCTP, dGTP, dTTP, dATP, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), 1 unit Dream Taq DNS polimerázt (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), valamint 150 ng genomi DNS-t tartalmazott. A PCR reakciók hőprofilja: 2 perc 94 °C denaturálás, 35 cikluson keresztül 45 másodperc 94 °C, majd 45 másodperc 46 °C (*COI*, E2/H2) vagy 48 °C (*16S*) annealing, 45 másodperc 72 °C elongáció, majd a ciklusok után 5 perc 72 °C. A PCR termékeket -20 °C-on tároltam azok oszlopos tisztításáig, minőség-ellenőrzéséig és Sanger szekvenálásig, melyet a BIOMI Kft. (Gödöllő, Magyarország) végzett el. A szekvenálás során BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit-et (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) alkalmazták a gyártó leírása szerint. ABI.3500xl-es Genetikai Analizátor (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) készüléken történt a minták leolvasása (leolvasási hossz: 1000-1100 bp, amelyből minimum 800 bp hosszon QV>20), az eredményeket pedig elektroferogramok (.abi) formában kaptam meg.

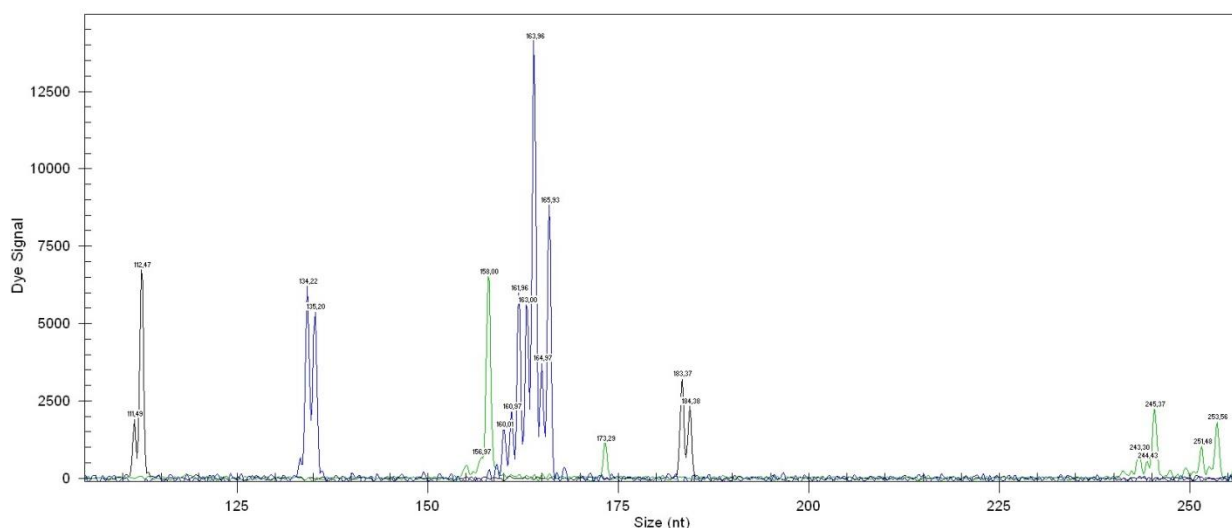
4.4. Mikroszatellit genotipizálás

Ugyanazon 144 minta genotipizálását 20 mikroszatellit marker (A29, A35, A88, A107, A113 (Estoup et al. 1995), A007, A(B)24, Ac011, Ac306, Ap049, Ap218, Ap226, Ap289, Ap307 (Solignac et al. 2003), Ap033, Ap043 (Garnery et al. 1998), A008 (Franck et al. 1998), Ap055, Ap066, és Ap081 (Techer et al. 2015)) használatával végeztem el. A markerek kiválasztása a szakirodalomból, polimorfizmus információtartalmuk (PIC) alapján történt, mindegyik a közepesen, vagy az erősen informatív kategóriába esett.

A vizsgálat idő- és költséghatékonyságának növelése érdekében ún. „farkas” primereket alkalmaztam (Schuelke 2000). Ennek során nem közvetlenül jelölt oligonukleotidok kerültek felhasználásra, hanem a forward primer 5' vége elé egy 18 bázispár hosszú szekvenciát (5'-CAGGACCAGGCTACCGTG-3') illesztettem (Blacket et al. 2012). Ezt az univerzális „fark” (tail) szekvenciát három különböző fluoreszcens festékkel jelöltem (WELL-RED): D2 (fekete), D3 (zöld), D4 (kék). Így lehetőség nyílt megfelelő optimalizálással marker szettek kialakítására PCR reakciókon belüli multiplexálással (7 multiplex és 4 szimplex reakció) és/vagy a PCR termékek poolozásával (M2. melléklet), vagyis így a genotipizálás egyszerre 6-7 markerrel párhuzamosan valósulhatott meg.

A PCR reakciókat 15 µl végtérfigatban mértem össze, mely 10x Dream Taq puffert (20 mM MgCl₂, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), 5 µM primert, 0,2 mM dNTP mixet (dCTP, dGTP, dTTP, dATP, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), 1 unit Dream Taq DNS polimerázt (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), valamint 30 ng genomi DNS-t tartalmazott. A PCR reakciók hőprofilja megegyezett a mtDNS vizsgálat során alkalmazott paraméterekkel, kivéve a kialakított primer szettek tapadási hőmérsékletét és a ciklusszámot, melyeket a M2. melléklet tartalmaz. A forward, az univerzális szekvenciával növelt „farkas” forward és a reverse primerek aránya minden PCR esetben 1:2:1 arányú volt.

A PCR termékek detektálása automata DNS szekvenátor (GenomeLab™ GeXP Genetic Analysis System, Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA, USA) segítségével, 400 bp hosszúságú allél létra (GenomeLab™ DNA Size Standard-400, Beckman Coulter) használatával, a gyártó leírása alapján történt (12.ábra).



12. ábra: A PCR termékek detektálása fragment analízissel, kapilláris gélelektroforézis használatával

4.5. Teljes genom szekvenálás

A DNS koncentráció 30 ng/μl-re történő egalizálását követően a minták 20x-os lefedettségű szekvenálását az iBioScience Kft. (Pécs, Magyarország) végezte el. Ilyen mennyiségű adat feldolgozásához elengedhetetlen az ehhez szükséges számítógépes kapacitás, és a kifejezetten erre fókuszáló bioinformatikai szakmai háttér.

Az izolált genomikus DNS koncentrációját Qubit 3.0 (Thermo Fisher, Waltham, MA, USA) és fragmentáltságát Agilent 4200 TapeStation (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) készülékekkel határozták meg. Az Illumina kompatibilis könyvtárak előkészítése az xGen DNA EZ Library Prep Kit (IDT, Coralville, IA, USA) alkalmazásával történt. A genomi DNS-t (50 ng) fragmentálták, majd a DNS végeket javították és adaptereket ligáltak hozzá. Ezután mágneses gyöngyökkel végzett, méretalapú szelekcióval választották ki a 250-300 bp közötti fragmentumokat, végül a könyvtárakat a gyártó utasításai szerint amplifikálták és tisztították. A könyvtárak minőségét az Agilent 4200 TapeStation rendszerrel ellenőrizték D1000 ScreenTape kazetta alkalmazásával. A koncentrációt Qubit 3.0 fluorométerrel határozták meg. A szekvenálást Illumina NovaSeq 6000 készüléken (Illumina, San Diego, CA, USA) végezték el 2×151 bázispáros leolvasással.

4.6. Az adatelemzéshez használt statisztikai módszerek

4.6.1. Mitokondriális DNS analízis

A *COI* és *16S* gének értékelése külön-külön, és együttesen is, úgynevezett mesterséges, vagy szintetikus szekvenciák egyedenkénti létrehozásával is megtörtént, mellyel a vizsgált méhcsoporthoz mitokondriális DNS-ének diverzitását mértem fel. A tRNA^{Leu-cox2} intergénikus régió (*COI-COII*) szekvenciáit külön értékeltem, mellyel a pannon méh evolúciós eredetét határoztam meg.

A nyers szekvenciák minőségi ellenőrzését követően azokat egymáshoz igazítottam a MEGA11 11.0.13 programmal (Tamura et al. 2021) és a ClustalW algoritmus (Higgins et al. 1988) segítségével elemeztem. Ezt követően DnaSP v6. 12.03 szoftverrel (DNA Sequence Polymorphism v6.12.03, Rozas et al. 2017) méhcsoporthozként (MF, NMF, REF, KRAJ) meghatároztam a haplotípusokat és a diverzitási értékeket (nukleotid diverzitás (π), haplotípus diverzitás (Hd)), Fu-féle F_s érték, Tajima-féle genetikai távolság (D) és a szignifikancia szintje). A Tajima-féle D érték egy olyan mutató, melyet a vizsgált egyedek páronkénti összehasonlításából származó szegregáló helyek, és az átlagos nukleotid különbségek kapcsolatából becsülnek meg. Ez az érték lehetőséget ad arra, hogy következtetéseket vonjunk le az állományon belüli genetikai sokféleségről. Amennyiben ez az érték pozitív, azt jelzi, hogy a populációban a közepes gyakoriságú polimorfizmusok vannak túlsúlyban, amelynek oka lehet az állománycsökkenés, vagy a balancing (kiegyensúlyozó) szelekció. A negatív érték viszont azt jelentheti, hogy a populációban az alacsony gyakoriságú allélváltozatok dominálnak, ami az állomány növekedésének, vagy pozitív szelekciónak lehet a következménye (Tajima 1989). A Fu-féle F_s érték a haplotípusok gyakoriságán alapszik, melyből következtethetünk egy populációban zajló folyamatokra, például a logisztikus növekedésre, a genetikai sodródásra vagy a háttér szelekcióra egy lokusz evolúciója alapján. A negatív érték arra utalhat, hogy a populációban több allél van jelen, mint amit a semleges evolúciós modell alapján várnánk, ami pozitív szelekcióra, vagy a populáció növekedésére utalhat. Ezzel szemben a pozitív érték az allélok számának csökkenését jelezheti, amely a populációméret visszaesésének következménye lehet (Fu 1997).

A kapott haplotípusokat összehasonlítottam az NCBI (National Center for Biotechnology Information) adatbázisában elérhető szekvenciákkal a nukleotid BLAST (Basic Local Alignment Search Tool program (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) segítségével, annak megállapítására, hogy vannak-e a vizsgált mintákban egyedi, az NCBI génbankban még nem fellelhető haplotípusok (Altschul et al. 1990).

A haplotípusok közötti kapcsolatok vizualizálására Median-Joining ábra készült a Network 10 szoftver segítségével (Bandelt et al. 1999, <http://www.fluxus-engineering.com>). A *COI* és *16S*

gének együttes értékelése során 45 különböző, több *Apis mellifera* alfajhoz tartozó szekvenciát vontam be az elemzésbe az NCBI adatbázisból (M3. melléklet). A tRNA_{leu-cox2} intergénikus régió (*COI-COII*) vizsgálatához ezeket kiegészítettem, így ez esetben összesen 62 *Apis mellifera* szekvenciát használtam fel az adatbázisból (M3., M4. melléklet), hogy pontosabb legyen a kép a pannon méh evolúciós eredetét illetően.

Az evolúciós vonalak más szemszögből való szemléltetése céljából készítettem egy maximum likelihood filogenetikai fát is a MEGA 11 (11.0.13 verzió) szoftver segítségével, a Tamura háromparaméteres modell alkalmazásával (Tamura et al. 2021).

4.6.2. Mikroszatellit alapú populációgenetikai elemzések

A mikroszatellit marker analízis eredményeit a GenomeLab Genetic Analysis System 10.2 szoftverrel (Beckman Coulter, Inc., 4300 North Harbor Boulevard, Fullerton, CA, USA), egyedenként értékeltem. A méhcsoportokon belüli genetikai diverzitás értékeit (allélszámok átlaga (MNA), „unbiased” várt (H_E) és tényleges (H_O) heterozigotizás, csoporton belüli beltenyésztettségi érték (F_{IS}), Hardy-Weinberg teszt (HW)) a Microsatellite Toolkit program segítségével határoztam meg (Park 2001).

A vizsgált méhcsoportokat páronként is összehasonlítottam (páronkénti F_{ST}) molekuláris varianciaanalízissel (AMOVA) a GenAlEx 6.5 program használatával, és azok szignifikanciáját is meghatároztam. Ugyanezzel a módszerrel végeztem főkoordináta elemzést (Principal Coordinate Analysis – PCoA) is, mely az egyedeket a közöttük lévő genetikai távolság alapján helyezi el egymáshoz képest a koordináta rendszerben (Peakall & Smouse 2006, Peakall & Smouse 2012).

A főkomponensekre végzett diszkriminancia analízist (Discriminant Analysis of Principal Components – DAPC) az R 4.2.1 statisztikai szoftver adegenet 2.1.1.7 programcsomagjával készítettem el (Jombart 2008). Az „optimal a-score” opció használatával meghatároztam a megtartandó főkomponensek optimális számát.

A STRUCTURE 2.3.4. szoftverrel (Pritchard et al. 2000) végeztem el a vizsgált állományok genetikai struktúráját jellemző klaszter analízist, mely az MCMC (Markov Chain Monte Carlo) módszert alkalmazza, Bayes alapú megközelítéssel. A program allélmintázatok alapján sorolja az egyedeket csoportokba, bármiféle előzetes információ nélkül. A vizsgálatához az admixture modellt használtam, minden egyes K érték esetén (klaszterek száma: K=2, K=3, K=4, K=5, K=6) 20 000 „burn-in” fázist 50 000 iteráció követett. Minden K értéknél 100 futást indítottam, melyeket páronként összehasonlítottam a greedy algoritmus segítségével. A legnagyobb hasonlósági indexszel rendelkező futásokat a CLUMPAK 1.1 szoftvercsomaggal (Kopelman et al. 2015) vizualizáltam, az optimális csoportosítást (delta K) az Evanno módszerrel határoztam meg (Evanno et al. 2005).

4.6.3. SNP adatok bioinformatikai kiértékelése

Az adatelemzés során a tanulmányban vizsgált méh egyedek szekvenciái az NCBI adatbázisában megtalálható *Apis mellifera* referencia genommal (Amel_HAv3.1, Génbanki azonosító: GCF_003254395.2) lettek összehasonlítva.

A kapott eredmények vizualizációja főkomponens analízissel (Principal Component Analysis – PCA), a PLINK 1.07 szoftver használatával történt (Purcell et al. 2007, <https://zzz.bwh.harvard.edu/plink/download.shtml#download>). A PCA elemzésből – a bioinformatikai szakember korábbi tapasztalatai és javaslata alapján – a szélsőértékek ki lettek zárva, vagyis a variánsok felső 2 és alsó 5 %-a. Ennek oka az volt, hogy a nagyon monomorf (felső 2 %, majdnem minden egyedben megtalálható) és a meglehetősen ritka (alsó 5 %, elenyésző számban fordultak elő az egyedekben) variánsok ki legyenek szűrve, ezzel is csökkentve az adatmennyiség statisztikai felhasználását, ám mégsem torzítva az eredményeket. Tehát az adatelemzésben az 5-98 %-os gyakoriságú SNP variánsok vettek részt, ami még mindig óriási számú lókuszt jelentett.

A bioinformatikai szolgáltatás részeként egy, a variánsok kromoszómánként való szűrésére alkalmas applikációt fejlesztettek ki, ez a Bee PopData Filter App. A programot az elemzés idejére elérhetővé tették számomra, így el tudtam végezni a variánsok szűrését azok előfordulási gyakorisága alapján. Az értékelés során több szűrési tartományt is alkalmaztam a méhcsoportokra (100-0, 90-10, 80-20 % és ezek fordítottjai), azonban nem kaptam eredményt, ha az NMF csoportot is figyelembe vettem. A szakirodalom alapján is elengedő számú variánst (Wilkinson et al. 2012) kizárólag a 70-30 %-os (MF – NMF, REF) allélgyakoriságra történő szűrés esetén kaptam. Ennek azért van jelentősége, mert Wilkinson és munkatársai (2012) megállapították, hogy ha a markerpanel mérete 25 SNP alatti, az jelentősen ronthatja az adatok elemzésének megbízhatóságát. Következésképpen a megbízható eredmények érdekében minimum 25 SNP bevonása szükséges. Ezért azokat a variánsokat választottam ki, amelyek az MF csoportban legalább 70 %-os, míg ezek a pontmutációk az NMF és a REF csoportokban legfeljebb 30 %-os gyakorisággal fordultak elő, tekintve, hogy a morfológiailag megfelelt pannon méhekre jellemző variánsok detektálása volt az egyik fő célom. A másik féle szűrés ennek épp az ellenkezője volt, azok a variánsok kerültek kiválasztásra, melyek az MF csoportban legfeljebb 30 %-os, az NMF és a REF csoportokban pedig legalább 70 %-os gyakorisággal voltak jelen. Elvégeztem azt a szűrést is kétféle megközelítésből (70-30 % és 30-70 %), melyek csak az MF és REF csoportokra vonatkoznak, és az NMF csoportot figyelmen kívül hagytam, nem állítottam be szűrési tartományt ahhoz. Az így kapott adathalmaz még mindig számos variánst tartalmazott, 70-30 % esetén 2.735, míg a 30-70 % esetén 15.533 SNP-t. A bioinformatikai szolgáltatás részeként a következő lépés az lett volna, hogy ezen SNP-k alapján statisztikai elemzéseket végeznek a csoportok között,

úgy mint DAPC, PCA és STRUCTURE analízis, melyekkel összevethetőek lennének a mikroszatellit eredmények, és az irodalom alapján is elegendő számú SNP variáns alkalmas diverzitásvizsgálatok elvégzésére. Mivel az adathalmaz még így is meglehetősen nagy, igényli a nagy számítógépes kapacitást, hogy a megfelelő programokkal az elemzés elvégezhető legyen, azonban ez rajtam kívül álló okokból sajnos nem történt meg.

A szűrések által kapott variánsokat oszlopdiagrammon ábrázoltam kromoszómánként, annak érdekében, hogy megállapítsam a genomban való eloszlásukat.

5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

5.1. Mitokondriális DNS elemzés

5.1.1. A *COI* és *16S* mitokondriális régiók variabilitása

A *COI* gén esetében 142 értékelhető szekvenciát sikerült nyerni a 144 mintából, melyek 352 bp hosszúságúak voltak (Génbanki azonosítók: PQ686393 - PQ686534). Összesen 6 polimorf hely alapján az egyedek öt haplotípusba voltak sorolhatók, melyek egyike sem volt megtalálható az NCBI adatbázisában, így újak és egyedinek tekinthetők (3. táblázat, M5. melléklet).

3. táblázat: Haplotípusok előfordulása az egyes mintacsoportokban a *COI* gén esetén

<i>COI</i>		Egyedszám				Polimorfizmus pozíciója (bp)					
Haplotípus	Összes	MF	NMF	REF	KRAJ	32	143	170	171	270	293
HC1*	124	59	32	24	9	T	C	A	G	T	T
HC2*	8			8		C	.	.	.	C	.
HC3*	2	2				.	.	.	A	.	.
HC4*	1	1				.	.	G	.	.	.
HC5*	7				7	.	A	.	.	.	C

* új haplotípus

A táblázat a polimorf helyek számát mutatja (6) az egyes haplotípusokon belül, valamint az egyedek eloszlását az adott haplotípusban.

HC1–5: a vizsgált méhcsoportok mintáit tartalmazó haplotípusok, MF – fajtastandardnak megfelelt pannon méhek, NMF – morfológiailag hibás pannon méhek, REF – Buckfast hibrid, olasz méh x Buckfast hibrid, és olasz méh alfajok egyedei, KRAJ – más Európai országokból származó krajnai méhek

Az NCBI adatbázisban megtalálható referencia genom (Génbanki azonosító: MN250878.1) 2.116 pozíciójától kezdődtek el a vizsgált minták szekvenciái. Két polimorfizmus aminosav-változást eredményezett az NCBI adatbázisban szereplő szekvenciához (Génbanki azonosító: NC_051932.1, Génazonosító: 60455728) képest: az egyik a HC4 haplotípus 180. pozíciójában (izoleucin helyett metionin), míg a másik a HC3 181. pozíciójában (valin helyett izoleucin) jelent meg (M6., M7 melléklet).

A *16S* gén szekvenciája a referencia genom (Génbanki azonosító: MN250878.1) 13.560 bázistól induló, 345 bp hosszúságú szakasz. A vizsgált minták (n=141, Génbanki azonosítók: PQ721124 - PQ721264) négy haplotípusba sorolódtak 4 polimorf hely alapján (4. táblázat, M8. melléklet). Ezek közül kettő új és egyedi haplotípusnak tekinthető, mivel nem szerepeltek az NCBI adatbázisában.

4. táblázat: Haplotípusok előfordulása az egyes mintacsoportokban a 16S gén esetén

16S Haplotípus	Egyedszám					Polimorfizmus pozíciója (bp)			
	Összes	MF	NMF	REF	KRAJ	25	31	67	228
HS1	109	57	19	24	9	C	A	C	T
HS2	8			8		.	G	T	C
HS3*	17	4	13			T	.	.	.
HS4*	7				7	.	.	.	A

* új haplotípus

A táblázat a polimorf helyek számát mutatja (4) az egyes haplotípusokon belül, valamint az egyedek eloszlását az adott haplotípusokban. HS1–5: a vizsgált méhcsoporthoz tartozó mintákat tartalmazó haplotípusok, MF – fajtastandardnak megfelelt pannon méhek, NMF – morfológiailag hibás pannon méhek, REF – Buckfast hibrid, olasz méh x Buckfast hibrid, és olasz méh alfajok egyedei, KRAJ – más Európai országokból származó krajnai méhek

A két gén (*COI*, *16S*) szekvenciáit egyedenként egyesítettem, így létrehoztam 141 egyed szintetikus szekvenciáját. A 635 bp hosszú mesterséges szekvencia első nukleotidja a *COI* szekvencia első bázisának felel meg, míg a 353. bázis a *16S* gén szekvenciájának első nukleotidja. A két szekvencia összevonásának oka, hogy egységesebb legyen a kép a vizsgált minták mtDNS régióinak diverzitásáról. Az egyedek hat haplotípusba klasztereződtek 10 polimorf hely alapján (5. táblázat).

5. táblázat: Haplotípusok előfordulása az egyes mintacsoportokban a *COI* és *16S* gének összevont értékelése során

Haplotípus	Egyedszám					Polimorfizmus pozíciója (bp)									
	Összes	MF	NMF	REF	KRAJ	32	143	170	171	270	293	370	376	412	573
H1	106	54	19	24	9	T	C	A	G	T	T	C	A	C	T
H2	7				7	.	A	.	.	.	C	.	.	.	A
H3	1	1				.	.	G	.	.	.	.	.	.	.
H4	2	2				.	.	.	A	.	.	.	.	.	.
H5	17	4	13			.	.	.	.	.	.	T	.	.	.
H6	8			8		C	.	.	.	C	.	.	G	T	C

A táblázat a polimorf helyek számát mutatja (10) az egyes haplotípusokon belül, valamint az egyedek eloszlását az adott haplotípusokban.

H1–6: a vizsgált méhcsoporthoz tartozó mintákat tartalmazó haplotípusok, MF – fajtastandardnak megfelelt pannon méhek, NMF – morfológiailag hibás pannon méhek, REF – Buckfast hibrid, olasz méh x Buckfast hibrid, és olasz méh alfajok egyedei, KRAJ – más Európai országokból származó krajnai méhek

A vizsgált minták közül a H1 haplotípus bizonyult a leggyakoribbnak, amely az összes egyed 75,2 %-át foglalta magába, és minden vizsgált csoportból tartalmazott példányt. Ez a haplotípus nemcsak a pannon méhekre volt jellemző, hanem detektáltam a REF csoport tagjaiban is, ideértve az olasz méh, a Buckfast hibrid, valamint a Buckfast × olasz hibrid egyedeket is. A második legtöbb elemszámot tartalmazó csoport a H5 haplotípus (12,05 %) volt. A haplotípusokban azonosított polimorf helyek száma összesen tíz. A H6 haplotípus a H1-től öt bázispárral tért el, és kizárólag Buckfast hibrid egyedeket tartalmazott. Az MF csoportban négy különböző haplotípus fordult elő, azonban a H3 és a H4 haplotípusokhoz mindössze egy, illetve két egyed tartozott. Az NMF, a REF és a KRAJ csoportok tagjai két-két haplotípusba klasztereződtek.

A statisztikai elemzéseket külön a COI és külön a 16S génekre is elvégeztem (M9. és M10. melléklet), illetve egyben, a mesterségesen összevont szekvenciákkal is meghatároztam az diverzitási értékeket (6. táblázat).

6. táblázat: A vizsgált méhcsoportok genetikai variáciája a COI és a 16S mtDNS régiók együttes értékelése során

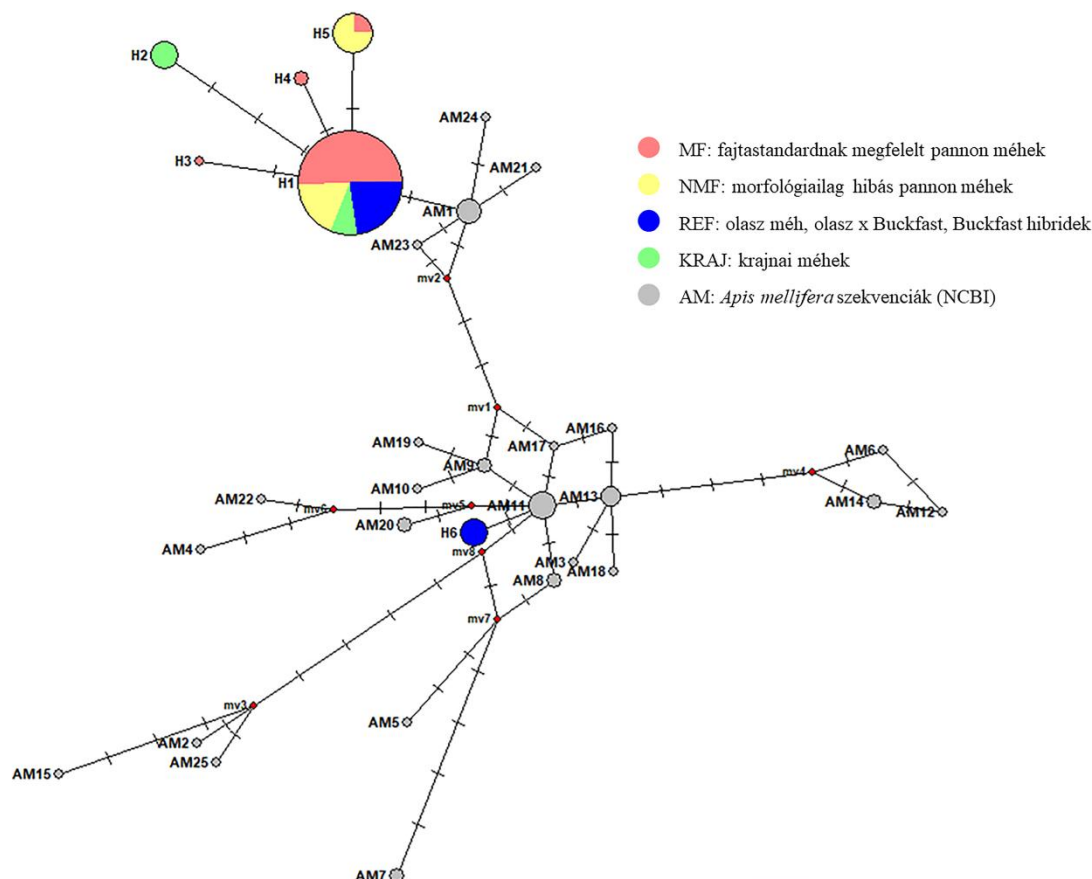
Csoport	H	Haplotípusok	Hd ± SD	π ± SD	Fs	D	p (D*)
MF	4	H1, H3, H4, H5	0,214 ± 0,068	0,0003 ± 0,0001	-2,610	-1,293	ns
NMF	2	H1, H5	0,498 ± 0,039	0,0007 ± 0,0001	1,670	1,535	ns
REF	2	H1, H6	0,387 ± 0,078	0,0028 ± 0,0006	6,099	1,500	ns
KRAJ	2	H1, H2	0,525 ± 0,055	0,0023 ± 0,0002	4,038	2,151	**
ÖSSZES	6	H1, H2, H3, H4, H5, H6	0,417 ± 0,049	0,0015 ± 0,0003	0,147	-1,147	ns

Haplotípus szám (H), haplotípus (Hd) és nukleotid (π) diverzitás, szórás (SD), Fs – Fu-féle Fs érték (Fs), D – Tajima-féle D érték (D) és a szignifikancia szint (p (D*)), a DnaSP v6.12.03 szoftver használatával. ns = nem szignifikáns ($P > 0,10$), ** $P \leq 0,05$.

MF – fajtastandardnak megfelelt pannon méhek, NMF – morfológiailag hibás pannon méhek, REF – Buckfast hibrid, olasz méh x Buckfast hibrid, és olasz méh alfajok egyedei, KRAJ – más Európai országokból származó krajnai méhek

A haplotípus diverzitás (Hd) tekintetében a legmagasabb értéket a KRAJ csoport esetében mértem ($Hd = 0,525 \pm 0,055$), míg a legalacsonyabbat az MF állomány mutatta ($Hd = 0,214 \pm 0,068$). A nukleotid diverzitás (π), amely az egyedek közötti genetikai távolság mértékét jelzi, szintén az MF csoportban volt a legalacsonyabb ($\pi = 0,0003$), míg a legmagasabb értéket a REF egyedekben detektáltam ($\pi = 0,0028$). Az MF csoport esetében mindkét, a populációk történeti folyamataira jellemző érték negatív volt ($D = -2,610$, $Fs = -1,293$), ezzel szemben az NMF, REF és KRAJ csoportokban ezek a statisztikai mutatók pozitív értékekkel bírtak.

A vizsgált méhmintákból származó, a *COI* és *16S* gének szintetikus szekvenciái összehasonlításra kerültek 45 különböző, több *Apis mellifera* alfajhoz tartozó (M3. melléklet) nyilvánosan elérhető szekvenciával az NCBI adatbázisból. Az összehasonlítást a NETWORK 10 szoftverrel végeztem el (13. ábra).



13. ábra: A *COI* és a *16S* gének összevont szekvenciáinak elemzéséből származó haplotípusok kapcsolati rendszere Median-joining hálózattal szemlélítve

H1–6: a vizsgált méhcsoportok mintáit tartalmazó haplotípusok, AM1–25: NCBI adatbázisból származó szekvenciákat tartalmazó haplotípusok (M3. melléklet). Az egyes körök mérete arányos az adott haplotípus gyakoriságával. A median vector (mv) egy feltételezett köztes haplotípust jelöl, amely a vizsgált mintákban nem fordult elő, a szoftver generálja.

Az AM haplotípusokhoz tartozó szekvenciák génbanki azonosítói: AM1 - AP018403.1, AP018404.1, AP018432.1, KY464957.1, MH341407.1, MN250878.1; AM2 - CM040891.1; AM3 - KJ396182.1; AM4 - KJ396183.1; AM5 - KJ396184.1; AM6 - KJ396185.1; AM7 - KJ396186.1, MN119925.1; AM8 - KJ396187.1, MG552699.1; AM9 - KJ396188.1, KY614238.1; AM10 - KJ396189.1; AM11 - KM458618.1, MG552682.1, MG552694.1, MG552697.1, MG552701.1, MN585110.1, MN714162.1, MZ981768.1; AM12 - KP163643.1;

AM13 - KX870183.1, KX943034.1, MG552681.1, MG552698.1; AM14 - KY464958.1, MN714161.1; AM15 - KY926884.1; AM16 - MF678581.1; AM17 - MG552687.1; AM18 - MG552692.1; AM19 - MG552693.1; AM20 - MG552703.1, MN585109.1; AM21 - MH341408.1; AM22 - MN585108.1; AM23 - MT188686.1; AM24 - MW811175.1; AM25 - OK075087.1.

Az NCBI adatbázisban szereplő referencia szekvenciákkal való összevetés során azok egyike sem mutatott teljes, 100 %-os egyezést az általam vizsgált egyedekével. A *COI* és a *16S* gének szekvenciáit külön-külön vetettem össze az NCBI adatbázisával a BLAST program segítségével, tehát nem az összevont szekvenciákat. Ennek oka, hogy a két gén szekvenálásából származó, mesterségesen előállított szintetikus szekvenciák nem léteznek az NCBI adatbázisában, a gének a genomban egymástól távol helyezkednek el. A H1, H2, H3, H4 és H5 haplotípusok nagyfokú hasonlóságot mutattak ismert alfajokkal, úgymint az olasz (Génbanki azonosító: MH341408.1), a krajnai (Génbanki azonosító: MW811175.1), és a kaukázusi méhek (Génbanki azonosító: AP018404.1), valamint a Buckfast hibrid (Génbanki azonosító: AP018432.1). Ezzel szemben a H6 haplotípus a következő, főként afrikai elterjedésű alfajokkal mutatott genetikai hasonlóságot: a fokföldi (*Apis mellifera capensis*, Génbanki azonosító: MG552682.1), a kelet-afrikai magasföld (*Apis mellifera scutellata*, Génbanki azonosító: MG552701.1), az észak-afrikai méh (*Apis mellifera intermissa*, Génbanki azonosító: KM458618.1) és az *Apis mellifera ruttneri* (Génbanki azonosító: MN714162.1).

5.1.2. Evolúciós eredet meghatározása az tRNA_{Leu}-cox2 intergénikus régió (*COI-COII*) alapján

A tRNA_{Leu}-cox2 intergénikus régió (*COI-COII*) analízise során összesen 124 minta szekvenciája bizonyult értékelhető minőségűnek (Génbanki azonosítók: PQ724159 - PQ724284). A szekvenált szakaszok 465 bázispár hosszúságúak voltak, és a referenciaszekvencia 3456. nukleotid pozíciójától indultak (Génbanki azonosító: MN250878.1). A vizsgálat során hat polimorf hely került azonosításra, melyek alapján a minták hat különböző haplotípusba sorolódtak (7. táblázat, M11. melléklet).

7. táblázat: Haplotípusok előfordulása az egyes mintacsoportokban a tRNA^{Leu}-cox2 intergénikus régió (COI-COII) esetén

Haplotípus	Egyedszám (db)					Polimorfizmus pozíciója (bp)					
	Összes	MF	NMF	REF	KRAJ	17	61	113	134	179	314
HE1 (C1)	45	24	13	7	1	.	.	.	.	T	C
HE2 (C2p)	13	1		12		.	A	.	.	.	.
HE3 (C2i)	2			2		.	.	.	A	.	.
HE4 (C2d)	41	20	14		7	T	T	A	G	C	T
HE5 (C2e)	22	9	5		8	(-)	.	.	.	.	.
HE6 (C2l)	1	1				.	.	(-)	.	.	.

A táblázat a polimorf helyek számát mutatja (6) az egyes haplotípusokon belül, valamint az egyedek eloszlását az adott haplotípusokban.

HE1–6: a vizsgált méhcsoportok mintáit tartalmazó haplotípusok, zárójelben azok az NCBI adatbázisban általános elfogadott nevezéktana

MF – fajtastandardnak megfelelt pannon méhek, NMF – morfológiailag hibás pannon méhek, REF – Buckfast hibrid, olasz méh x Buckfast hibrid, és olasz méh alfajok egyedei, KRAJ – más Európai országokból származó krajnai méhek

(-) – deléciónukleotid hiány

Az NCBI adatbázissal történő összehasonlító elemzés alapján valamennyi azonosított haplotípus korábban már leírásra került, és a szakirodalomban elfogadott nevezéktan szerint elnevezett formában szerepel (Franck et al. 2000, Muñoz et al. 2009, Alburaki et al. 2023). A génbanki adatbázis alapján az alábbi haplotípusokat azonosítottam, amelyek mindegyike a C evolúciós vonalhoz tartozott: HE1 – C1 (Génbanki azonosító: FJ824582.1), HE2 – C2p (Génbanki azonosító: HM117904), HE3 – C2i (Génbanki azonosító: JQ97703), HE4 – C2d (Génbanki azonosító: FJ824584), HE5 – C2e (Génbanki azonosító: FJ824586), HE6 – C2l (Génbanki azonosító: GQ433625).

A minták többsége a C1 (36,29 %) és C2d (33,06 %) haplotípusokba sorolódott, míg a C2l haplotípusba csupán egy MF egyed tartozott. A HE1 (C1) haplotípusban valamennyi vizsgált csoport egyedei képviseltették magukat, beleértve nemcsak a pannon (MF, NMF) és krajnai (KRAJ) méheket, hanem a REF csoportba tartozó olasz méh × Buckfast hibrideket is. Bár a C2d és a C2e haplotípusok viszonylag sok egyedet foglaltak magukba, a REF csoportból származó minták nem voltak jelen bennük, kizárólag MF, NMF és KRAJ egyedeket tartalmaztak. A HE2 (C2p) haplotípus az olasz méh egyedeiből, néhány Buckfast hibridből, valamint egy MF egyedből állt. A HE3 (C2i) haplotípusba két Buckfast hibrid egyed tartozott.

A tRNA_{Leu}-cox2 intergénikus régió (*COI-COII*) vizsgálata alapján a legnagyobb haplotípus diverzitás az MF (Hd = 0,525) és a REF (Hd = 0,581) csoportban mutatkozott, míg a legalacsonyabb értéket a KRAJ csoport esetében kaptam (Hd = 0,125). A nukleotid diverzitás szintén a krajnai méhekben volt a legalacsonyabb ($\pi = 0,0005$), míg a legmagasabb értéket a REF csoportban mértem ($\pi = 0,0035$). A *COI* és a *16S* szintetikus szekvenciáival ellentétben, az intergénikus régiónál a Tajima-féle D és Fu-féle Fs értékek az MF csoportban pozitívak voltak. A KRAJ csoport Tajima-féle D értékét leszámítva minden más csoportban pozitív értékeket kaptam (8. táblázat).

8. táblázat: A vizsgált mézelő méhcsoportok genetikai varianciája a tRNA_{Leu}-cox2 intergénikus mtDNS régió (*COI-COII*) alapján

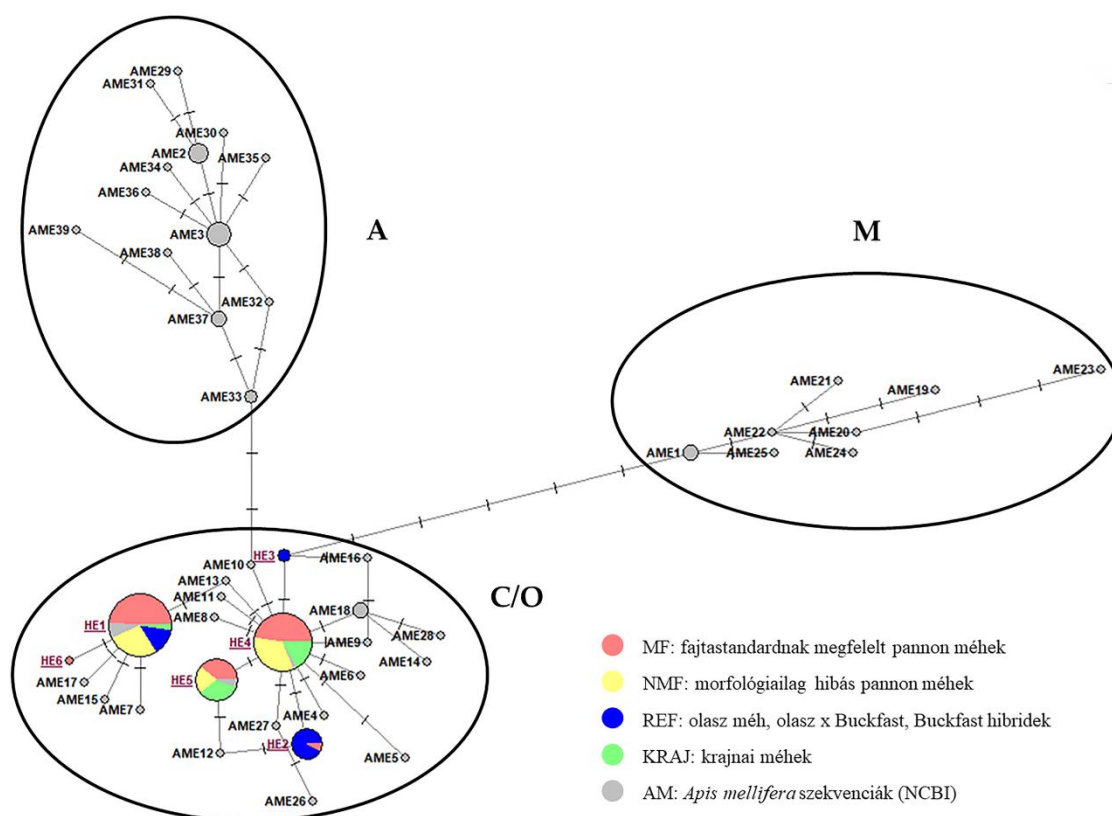
Csoport	H	Haplotípus	Hd $\pm$ SD	$\pi \pm$ SD	Fs	D	p (D*)
MF	5	HE1, HE2, HE4, HE5, HE6	0,525 $\pm$ 0,023	0,0023 $\pm$ 0,0001	2,325	1,205	ns
NMF	3	HE1, HE4, HE5	0,498 $\pm$ 0,039	0,0022 $\pm$ 0,0002	3,421	2,021	*
REF	3	HE1, HE2, HE3	0,581 $\pm$ 0,075	0,0035 $\pm$ 0,0004	2,606	1,325	ns
KRAJ	3	HE1, HE4, HE5	0,125 $\pm$ 0,106	0,0005 $\pm$ 0,0005	0,177	-1,498	ns
ÖSSZES	4	HE1, HE2, HE3, HE4, HE5, HE6	0,598 $\pm$ 0,024	0,0025 $\pm$ 0,0001	2,167	1,085	ns

Haplotípus szám (H), haplotípus (Hd) és nukleotid (π) diverzitás, szórás (SD), Fs – Fu-féle Fs érték és D – Tajima-féle D érték és a szignifikancia szint (p (D*)) a DnaSP v6.12.03 szoftver használatával

ns = nem szignifikáns ($P > 0,10$), $*0,05 < P \leq 0,10$

MF – fajtastandardnak megfelelt pannon méhek, NMF – morfológiailag hibás pannon méhek, REF – Buckfast hibrid, olasz méh x Buckfast hibrid, és olasz méh alfajok egyedei, KRAJ – más Európai országokból származó krajnai méhek

A kapott szekvenciák összehasonlításra kerültek 62, az NCBI adatbázisból származó szekvenciával (M3., M4. melléklet) a DnaSP v6.12.03 és a Network 10 szoftverek segítségével. A vizsgálat során összesen 45 haplotípusba sorolódtak a szekvenciák, melyek négy evolúciós vonalhoz tartoztak: A, C, O és M (14. ábra).



14. ábra: Median-joining hálózat a haplotípusok közötti kapcsolatok szemléltetésére a tRNA_{Leu-cox2} intergénikus régió (*COI-COII*) vizsgálata alapján

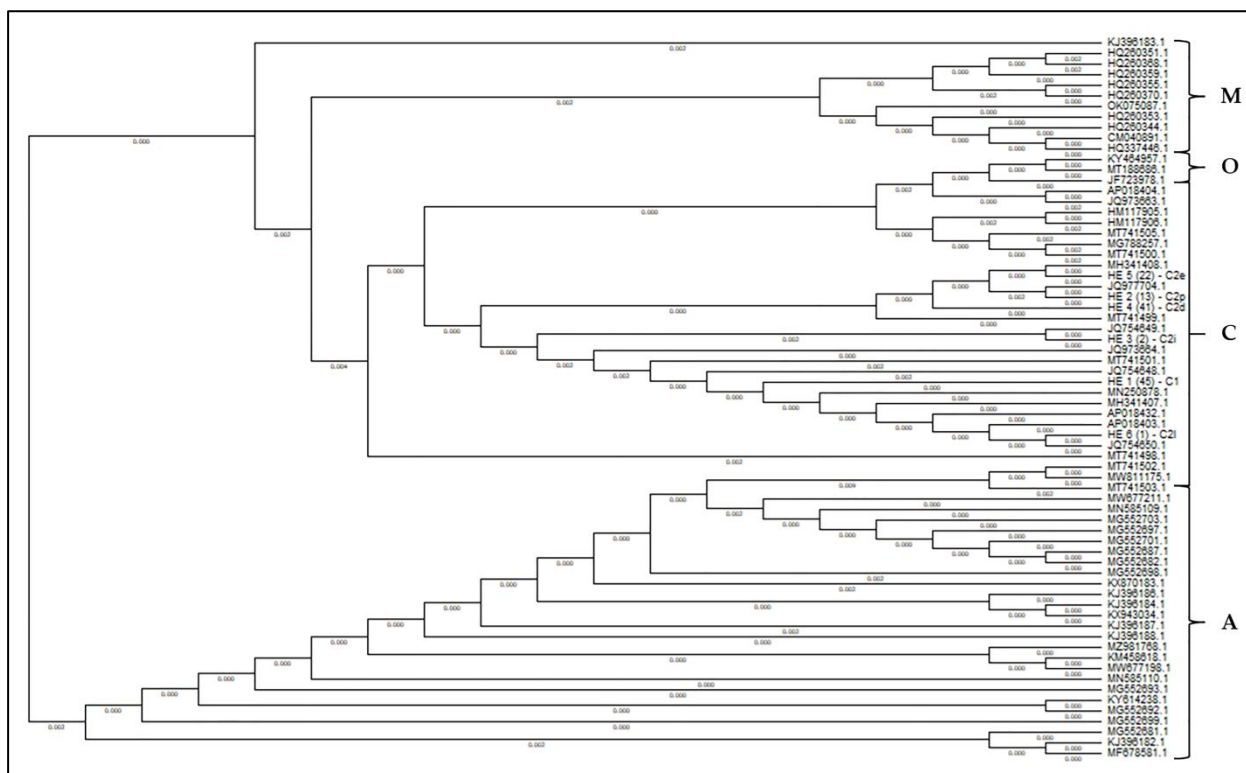
HE1–6: a vizsgált méhcsoportok mintáit tartalmazó haplotípusok, AME1–39: NCBI adatbázisból származó szekvenciákat tartalmazó haplotípusok (M3., M4. melléklet). Az egyes körök mérete arányos az adott haplotípus gyakoriságával. A, C, O, M: különböző evolúciós vonalak.

Az AM haplotípusokhoz tartozó szekvenciák, génbanki azonosítók: HE1 - MN250878.1, MH341407.1, AP018432.1, AP018403.1; AME1 - OK075087.1, HQ260353.1, CM040891.1; AME2 - MW677211.1, MN585109.1, MG552703.1, MG552697.1, MG552687.1; AME3 - MW677198.1, MZ981768.1, MN585110.1, MG552699.1, MG552693.1, MG552692.1, KY614238.1; AME4 - MT741505.1; AME5 - MT741503.1; AME6 - MT741502.1; AME7 - MT741501.1; AME8 - MT741500.1; AME9 - MT741499.1; AME10 - MT741498.1; AME11 - MG788257.1; AME12 - JQ977704.1; AME13 - JQ973664.1; AME14 - JQ973663.1; AME15 - JQ754650.1; AME16 - JQ754649.1; AME17 - JQ754648.1; AME18 - JF723978.1, KY464957.1, AP018404.1; AME19 - HQ337446.1; AME20 - HQ260370.1; AME21 - HQ260368.1; AME22 - HQ260359.1; AME23 - HQ260355.1; AME24 - HQ260351.1; AME25 - HQ260344.1; AME26 - HM117906.1; AME27 - HM117905.1; HE4 - MH341408.1; HE5 - MW811175.1; AME28 - MT188686.1; AME29 - MG552701.1; AME30 - MG552698.1; AME31 - MG552682.1; AME32 - MG552681.1; AME33 - MF678581.1, KJ396182.1; AME34 - KX943034.1; AME35 -

KX870183.1; AME36 - KM458618.1; AME37 - KJ396188.1, KJ396186.1, KJ396184.1;
AME38 - KJ396187.1; AME39 - KJ396183.1.

A HE1 (C1) haplotípus a legtöbb egyedet tartalmazó csoport (49 minta), amelyben a vizsgált mintákon (MF, NMF, REF és KRAJ) kívül a következők is megtalálhatóak voltak: olasz méh (Génbanki azonosító: MH341407.1), krajnai méh (Génbanki azonosítók: AP018403.1, MN250878.1), valamint egyéb Buckfast hibrid (Génbanki azonosító: AP018432.1). A második legtöbb elemet tartalmazó haplotípus a HE4 (C2d) volt, melybe a génbanki szekvenciák közül csupán csak egy olasz méh (Génbanki azonosító: MH341408.1) került, míg a HE5 (C2e) haplotípus egy krajnai méh egyedet tartalmazott (Génbanki azonosító: MW811175.1).

Az evolúciós vonalak áttekinthetőbb bemutatása érdekében egy filogenetikai fát is készítettem (15. ábra) a MEGA 11 szoftver segítségével ugyanazon szekvenciák alapján, amelyeket a hálózatelemzéshez is felhasználtam (14. ábra). A fa egyértelműen azt jelzi, hogy a vizsgált minták legszorosabb filogenetikai kapcsolatban a C evolúciós vonal haplotípusaival vannak, ugyanakkor viszonylag közeli rokonság figyelhető meg az O vonalhoz tartozó haplotípusokkal is.



15. ábra: A tRNA_{Leu}-cox2 intergénikus régió (*COI-COII*) filogenetikai elemzése a pannon méh evolúciós vonalának meghatározására

HE1–6: vizsgálatban részt vevő csoportok mintáit tartalmazó haplotípusok, utána zárójelben az adott haplotípushoz tartozó egyedek száma. Emellett feltüntetésre kerültek a haplotípusok általános elfogadott elnevezései az NCBI adatbázisban alkalmazott nomenklatura szerint.

A, C, O, M: különböző evolúciós vonalak

A *COI* és *16S* mitokondriális régiók variabilitás vizsgálata során a H6 haplotípusba tartozó 8 db Buckfast hibrid minta nem került bevonásra ebbe a vizsgálatba. Ennek oka a szekvenciák gyenge minősége, valamint az agaróz gélen történő ellenőrzés során a várható ~400 bp fragmentméret helyett ~800 bp méretű fragmenteket detektáltam.

5.2. Mikroszatellit marker analízis

A vizsgált méhcsoporthok genetikai diverzitásának felmérése céljából ugyanazt a 144 mintát genotipizáltam 20 mikroszatellit marker alkalmazásával, mint a mitokondriális DNS esetében. Összesen 224 különböző allélt azonosítottam, legtöbbet az A29 marker esetében, amely 27 eltérő allélváltozatot eredményezett. Ezzel szemben a legkevesebb az Ap066 markernél fordult elő, összesen 3 allél.

A legalacsonyabb átlagos allélszám a KRAJ csoportban volt ($MNA = 3,7 \pm 2,18$), amely feltehetően a korlátozott mintaszámnak (16 egyed) és azok szűk földrajzi eredetének (két család két méhészetből) tudható be. Ezzel szemben a legmagasabb alléldiverzitás az MF csoportban volt megfigyelhető ($MNA = 9,3 \pm 4,93$), amely 64 mintából állt, és 16 különböző méhanya tenyésztőtől származott (9. táblázat).

A heterozigotizációs értékek alapján megítélhető, hogy az állományok milyen mértékben térnek el a Hardy–Weinberg egyensúly (HW) állapotától. Az MF és NMF csoportban a várt és tényleges heterozigotizációs értékei között szignifikáns különbség mutatkozott, vagyis ezek a csoportok eltértek a Hardy–Weinberg egyensúlytól. A REF és a KRAJ csoportokban nem volt szignifikáns eltérés ettől. Általában véve minden vizsgált méhcsoportban magas volt a heterozigotizáció, talán a KRAJ csoportban volt alacsonyabb némileg. A beltenyésztettség szint (F_{IS}) minden vizsgált csoportban alacsony volt (9. táblázat).

9. táblázat: A vizsgált méhcsoportok alap diverzitás paraméterei

Csoport	Egyedszám	MNA $\pm$ SD	H _E $\pm$ SD	H _O $\pm$ SD	F _{IS}	HW
MF	64	9,3 $\pm$ 4,93	0,59 $\pm$ 0,046	0,54 $\pm$ 0,014	0,088	***
NMF	32	6,5 $\pm$ 3,27	0,55 $\pm$ 0,052	0,52 $\pm$ 0,020	0,053	*
REF	32	7,2 $\pm$ 3,51	0,64 $\pm$ 0,051	0,62 $\pm$ 0,019	0,029	ns
KRAJ	16	3,7 $\pm$ 2,18	0,47 $\pm$ 0,054	0,47 $\pm$ 0,028	0,013	ns

*P < 0,05, ***P < 0,001

MNA – allélszámok átlaga, H_E – „unbiased” várt heterozigotizáció, H_O – „unbiased” tényleges heterozigotizáció, SD – szórás, F_{IS} – állományon belüli beltenyésztettség értéke, HW – Hardy–Weinberg teszt, ns – nem szignifikáns,

MF – fajtastandardnak megfelelt pannon méhek, NMF – morfológiailag hibás pannon méhek, REF – Buckfast hibrid, olasz méh x Buckfast hibrid, és olasz méh alfajok egyedei, KRAJ – más Európai országokból származó krajnai méhek

Számos ritka allél (gyakoriságuk 10 % alatti) detektáltam, több olyan is előfordult, amely kizárólag az egyik csoportban volt csak kimutatható (MF: 44 db, NMF: 6 db, REF: 24 db, KRAJ: 2 db). Két allélváltozat kizárólag az NMF és a REF csoportban fordult elő (M12. melléklet).

A csoportok közötti genetikai differencia mértékét páronkénti F_{ST} értékek számításával határoztam meg. Az elemzés során a legnagyobb genetikai különbség a REF és a KRAJ csoportok között volt (F_{ST} = 0,071), míg a legalacsonyabb az MF és az NMF között (F_{ST} = 0,008). A genetikai differenciák valamennyi esetben szignifikánsnak bizonyultak, még az MF és NMF kismértékű eltérést mutató értéke is (10. táblázat).

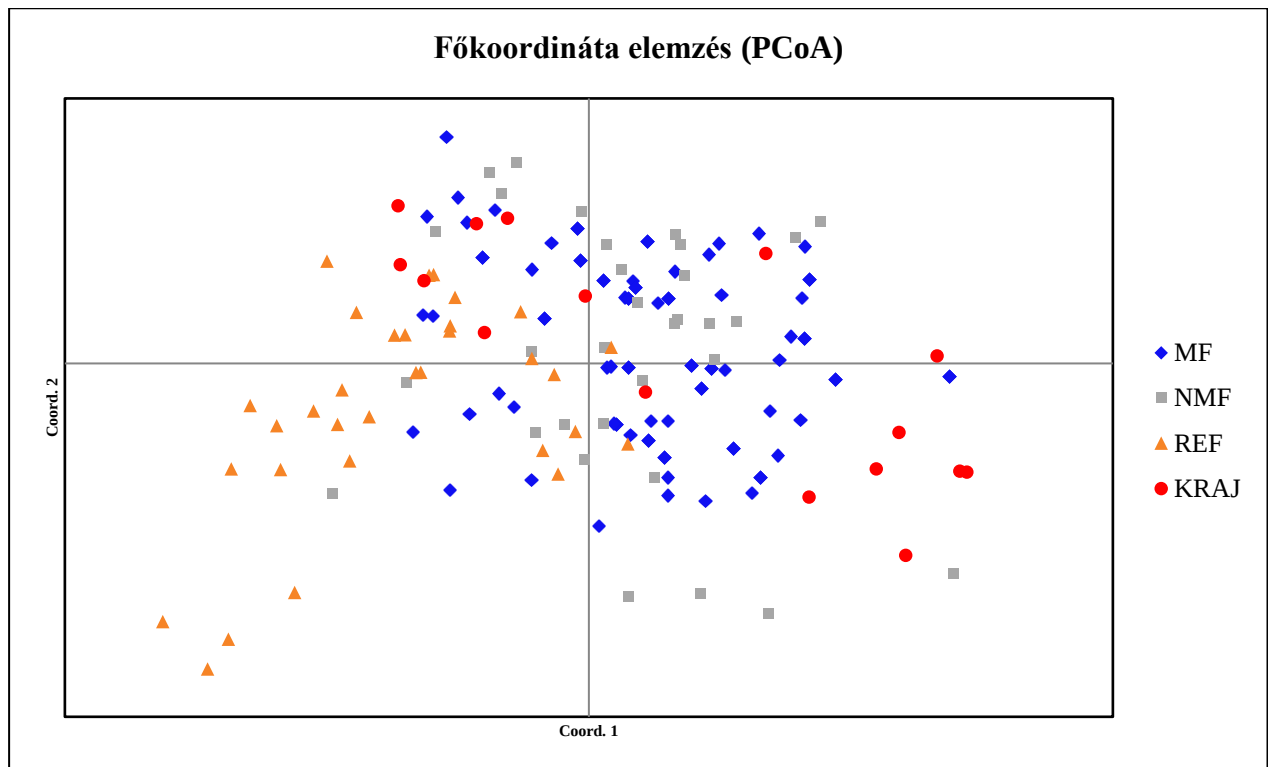
10. táblázat: A vizsgált méhcsoportok páronkénti F_{ST} értékei (átló alatt) és azok szignifikancia szintje (átló felett)

	MF	NMF	REF	KRAJ
MF		0,005	0,000	0,000
NMF	0,008		0,000	0,000
REF	0,042	0,047		0,000
KRAJ	0,032	0,037	0,071	

(p érték: 9999 permutáción alapuló P (rand $\geq$ adat) valószínűsége, AMOVA)

MF – fajtastandardnak megfelelt pannon méhek, NMF – morfológiailag hibás pannon méhek, REF – Buckfast hibrid, olasz méh x Buckfast hibrid, és olasz méh alfajok egyedei, KRAJ – más Európai országokból származó krajnai méhek

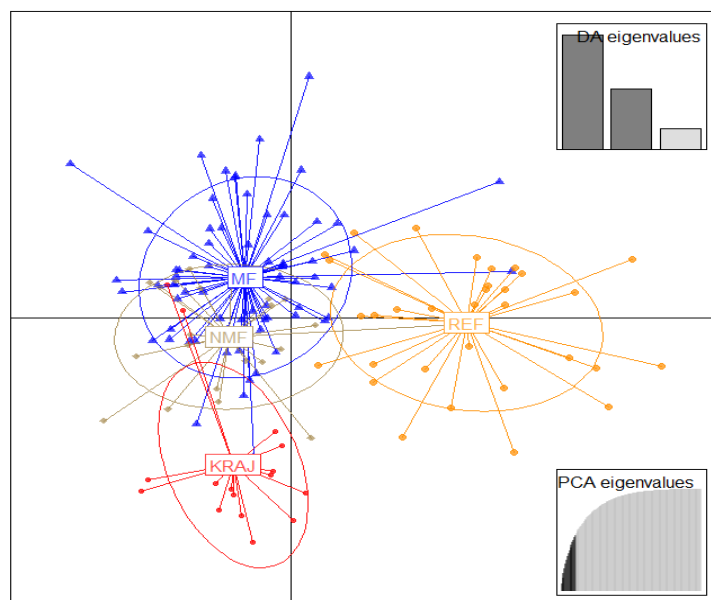
A főkoordináta elemzés (PCoA, Principal Coordinate Analysis) során azt tapasztaltam, hogy az egyedek közötti genetikai távolságok alapján a REF csoport viszonylag jól elkülönült a többtől. Az MF és az NMF csoportok között átfedés volt megfigyelhető, melyet a páronkénti F_{ST} értékek is alátámasztottak. A KRAJ egyedek viszonylag közel helyezkedtek el az MF csoporthoz, ami nem meglepő, tekintve, hogy a pannon méh a krajnai méh egy ökotípusa. Ugyanakkor a KRAJ csoport egyedei két, egymástól viszonylag távoli részen helyezkedett el a koordináta rendszernek, mely jól reprezentálja különböző származási helyeiket (16. ábra).



16. ábra: A vizsgált méhcsoportokon végzett főkoordináta elemzés (PCoA) egyedek közötti genetikai távolságok alapján

MF (kék) – fajtastandardnak megfelelt pannon méhek, NMF (szürke) – morfológiailag hibás pannon méhek, REF (narancs) – Buckfast hibrid, olasz méh x Buckfast hibrid, és olasz méh alfajok egyedei, KRAJ (piros) – más Európai országokból származó krajnai méhek

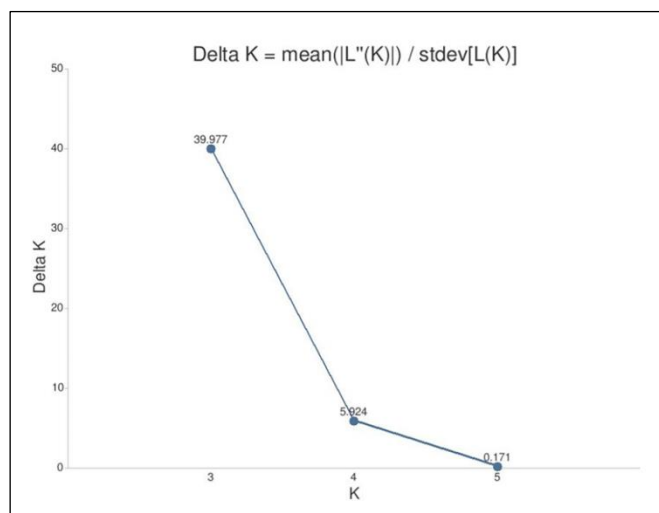
A főkomponenseken alapuló diszkriminancia analízis (DAPC) esetében az optimális PCA szám 15 volt, melyet felhasználtam az értékelés során. Azt látjuk, hogy a REF szépen elkülönült a többi vizsgált méhcsoporttól. Az MF és az NMF között itt is részleges átfedés volt érzékelhető, azonban észrevehető, hogy az NMF egyedei jobban hasonlítanak a krajnai méhekhez (KRAJ), mint az MF egyedek (17. ábra).



17. ábra: A vizsgált méhcsoporthok egyedein végzett diszkriminancia analízis (DAPC) 15 főkomponens alapján

MF (kék) – fajtastandardnak megfelelt pannon méhek, NMF (szürke) – morfológiailag hibás pannon méhek, REF (sárga) – Buckfast hibrid, olasz méh x Buckfast hibrid, és olasz méh alfajok egyedei, KRAJ (piros) – más Európai országokból származó krajnai méhek, DA eigenvalues – diszkriminancia analízis saját értékei, PCA eigenvalues – főkomponens analízis saját értékei

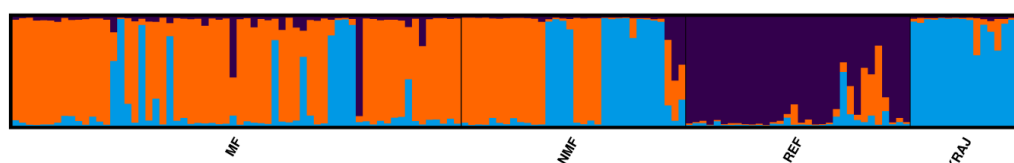
A vizsgált méhcsoporthok genetikai struktúrájának felmérése során meghatároztam az Evanno módszer szerinti legvalószínűbb csoportosítást (delta K), mely a $K=3$ volt (18. ábra). A négy méhcsoporthoz tehát három jól elkülönülő klaszterbe volt sorolható a program szerint.



18. ábra: A vizsgált méh egyedek legvalószínűbb csoportosítása (delta K) az Evanno módszer alapján

Delta K – valószínűségi függvény másodrendű változásának mértékén alapuló mennyiség, K – genetikai klaszterek száma

A CLUMPAK szoftver segítségével vizualizáltam az optimális klasztereződést (K=3), mely valószínűségét tekintve 92 %, vagyis 100 futásból 92 alkalommal kaptam meg ugyanazt a megoldást, 97 %-os küszöbérték mellett (19. ábra).



19. ábra: A vizsgált mézelő méhcsoporthoz egyedeinek osztályozása STRUCTURE analízissel (K=3)

MF – fajtastandardnak megfelelt pannon méhek, NMF – morfológiailag hibás pannon méhek, REF – Buckfast hibrid, olasz méh x Buckfast hibrid, és olasz méh alfajok egyedei, KRAJ – más Európai országokból származó krajnai méhek, K – csoportok száma

A REF csoport egyedei egyértelműen elkülönültek a pannon eredetű (MF, NMF), illetve a krajnai (KRAJ) méhektől, melyet az ábrán a sötétlila szín jól mutat. A narancssárga színnel jelölt klaszter legfőképpen az MF csoportban volt jelen, habár jelentős mértékben megtalálható volt az NMF csoportban is, vagyis az MF és NMF csoportok közötti átfedés ez esetben is megfigyelhető volt. Ugyanakkor a világoskék színnel jelölt klaszter leginkább a KRAJ csoport egyedeit jellemezte, és kisebb mértékben MF, nagyobb mértékben NMF egyedek is ebbe a csoportba

sorolódtak. Ez alátámasztja a DAPC analízis során kapott eredményeket, miszerint az MF és NMF között kismértékű különbség figyelhető meg, illetve az utóbbi jobban hasonlít a krajnai méhekhez, mint az előbbi.

5.2.1. A teljes genom szekvenálásra kiválasztott mintagyűjtemény populációgenetikai analízise mikroszatellit markerekkel

Az SNP vizsgálatokra kiválasztott minták (87 egyed) alkotta méhcsoportok alap diverzitás mutatói nem változtak számottevően a 144 mintából álló mintagyűjteményhez (9. táblázat) képest a mikroszatellit marker analízis során. A mintaszám csaknem felére redukálásával nem csökkentek jelentősen a diverzitási értékek, egyedül az MF csoportban volt ez felfedezhető, hiszen kevesebb, mint felét választottam ki, hogy az egyes méhcsoportok kiegyenlített mintaszámmal vehessenek részt a vizsgálatban. Azonban továbbra is magas heterozigotizáció és alacsony beltenyésztettségi szint jellemezte a kialakított három méhcsoportot (11. táblázat).

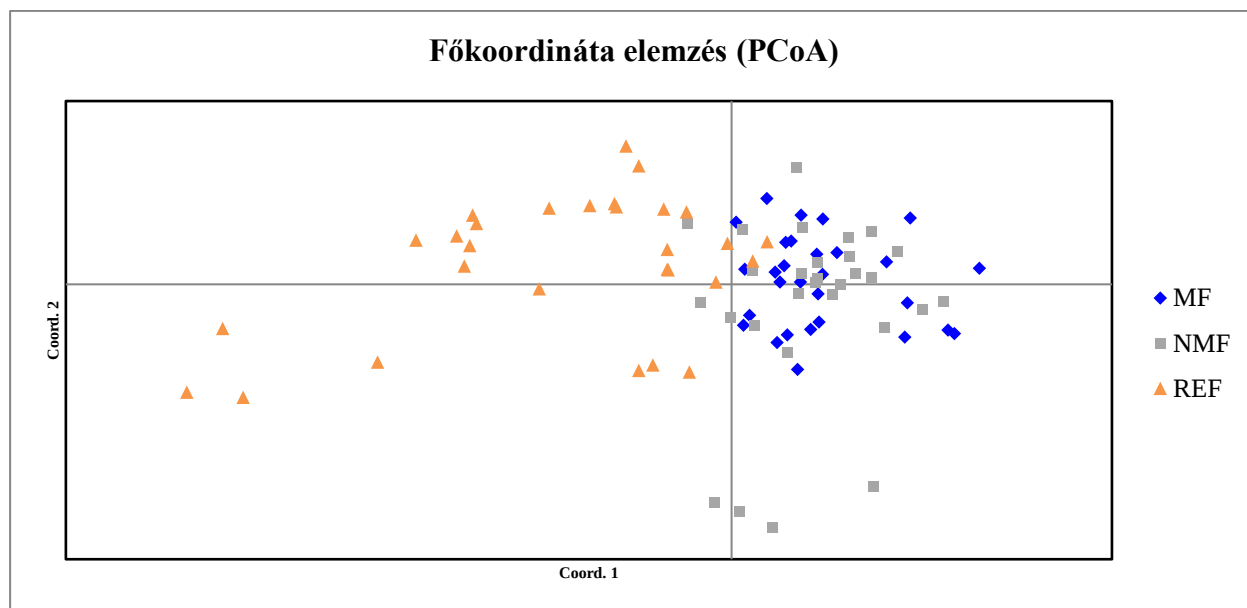
11. táblázat: Az SNP vizsgálatra kiválasztott méh egyedek három csoportjának alap diverzitás paraméterei

Csoport	Egyedszám	MNA $\pm$ SD	H _E $\pm$ SD	H _O $\pm$ SD	F _{IS}	HW
MF	29	7,5 $\pm$ 4,01	0,56 $\pm$ 0,050	0,52 $\pm$ 0,021	0,073	**
NMF	29	6,0 $\pm$ 3,20	0,53 $\pm$ 0,053	0,50 $\pm$ 0,021	0,054	*
REF	29	7,3 $\pm$ 3,83	0,64 $\pm$ 0,050	0,62 $\pm$ 0,020	0,037	ns

MNA – allélszámok átlaga, H_E – „unbiased” várt heterozigotizáció, H_O – „unbiased” tényleges heterozigotizáció, SD – szórás, F_{IS} – állományon belüli beltenyésztettségi érték, HW – Hardy-Weinberg teszt, ns = nem szignifikáns, *P < 0,05, **P < 0,01

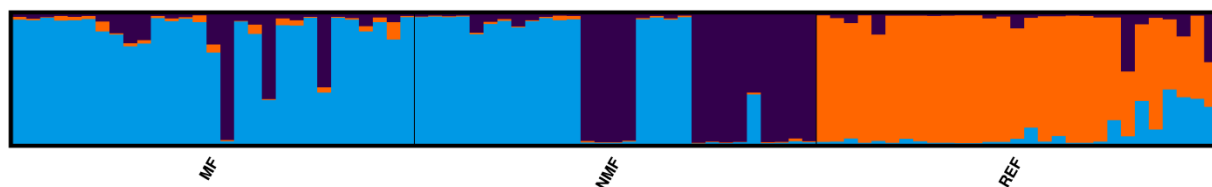
MF – fajtastandardnak megfelelt pannon méhek, NMF – morfológiailag hibás pannon méhek, REF – Buckfast hibrid, olasz méh x Buckfast hibrid, és olasz méh alfajok egyedei

Ezen kívül a PCoA (20. ábra) és a STRUCTURE (21. ábra) elemzést is elvégeztem a 87 egyeddel rendelkező mintakollekción.



20. ábra: Az SNP vizsgálatokra kiválasztott mintakollekció főkoordináta elemzése

MF (kék) – fajtastandardnak megfelelt pannon méhek, NMF (szürke) – morfológiailag hibás pannon méhek, REF (narancs) – Buckfast hibrid, olasz méh x Buckfast hibrid, és olasz méh alfajok egyedei



21. ábra: Az SNP vizsgálatokra kiválasztott mintakollekció klaszteranalízise mikroszatellit markerekkel (K=3)

MF – fajtastandardnak megfelelt pannon méhek, NMF – morfológiailag hibás pannon méhek, REF – Buckfast hibrid, olasz méh x Buckfast hibrid, és olasz méh alfajok egyedei

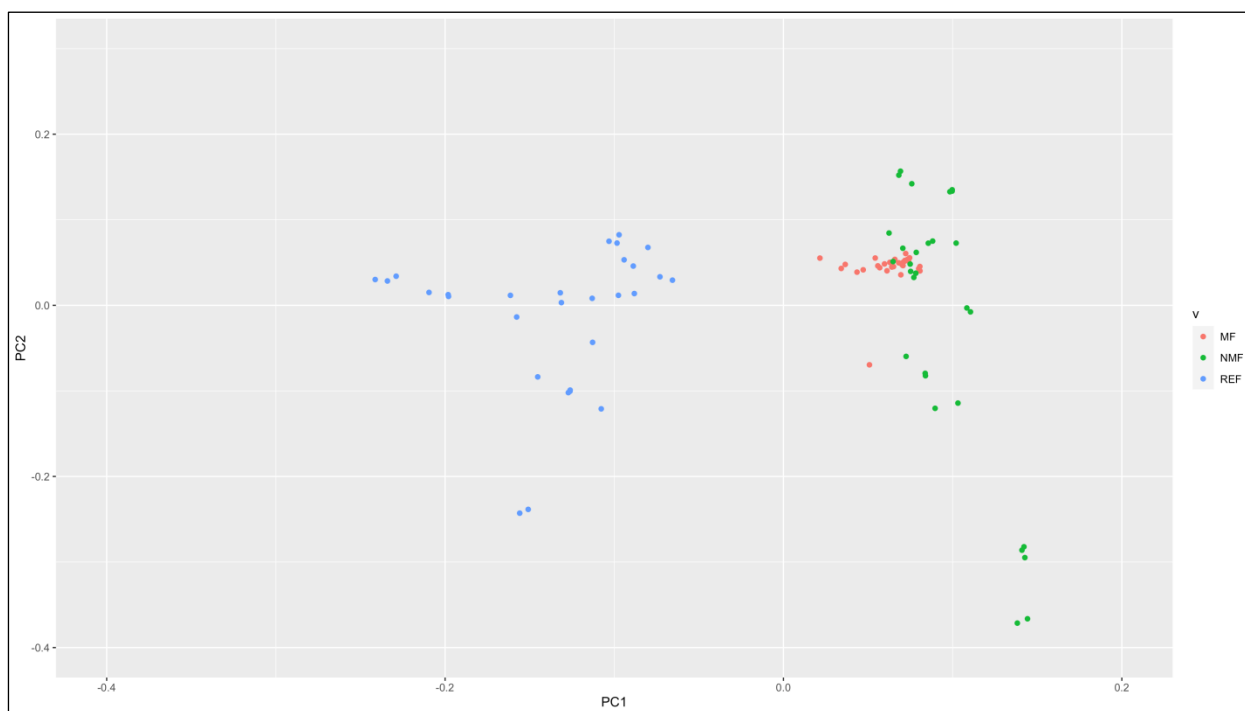
Mindkét elemzés során hasonlókat tapasztaltam, mint a nagyobb elemszámmal történő populációgenetikai értékelés esetén, miszerint az MF és NMF csoportok némi átfedést mutattak, ám a REF csoport nagyon jól elkülönült a pannon méhektől. Fontos megjegyezni, hogy a STRUCTURE analízis során az Evanno módszer szerinti legvalószínűbb (98 %) csoportosítás ez esetben is a K=3 volt, és ebben az összehasonlításban nem szerepeltek a krajnai méhek. Lila

színnel jelent meg a harmadik csoport, mely leginkább az NMF csoportban volt detektálható. Előfordultak egyedek, melyek az MF csoportba klasztereződtek lila színnel, ugyanakkor a három méhcsoporthat a program három klaszterbe sorolta (21. ábra).

5.3. Nagy felbontású markerelemzés pontmutációk alapján

A vizsgálatba három méhcsoporthat 29-29 egyede került bevonásra: MF, NMF és REF. Az elemzés összesen 6.533.718 lókuszt esetén tárt fel variánst a 87 mintában, melyek az alternatív allélok. Ebből 67.078 lókusznál a referencia genomhoz képest az általam vizsgált mintákban kétféle alternatív allélváltozat, míg 604 lókusznál ezekben a mintákban háromféle alternatív allélváltozat került meghatározásra. A nagymértékű csökkenés oka, hogy a kétféle alternatív allél esetén az egy és a három alternatív allélváltozatok nem szerepeltek, a három alternatív allélváltozat esetén pedig az egy és a kétféle alternatív allélos változatok nem.

A PCA elemzés alapjául az 5-98 % közötti gyakorisággal előforduló alternatív allélok szolgáltak, ami még így is 5.912.008 variánst (SNP) jelentett összességében (22. ábra).

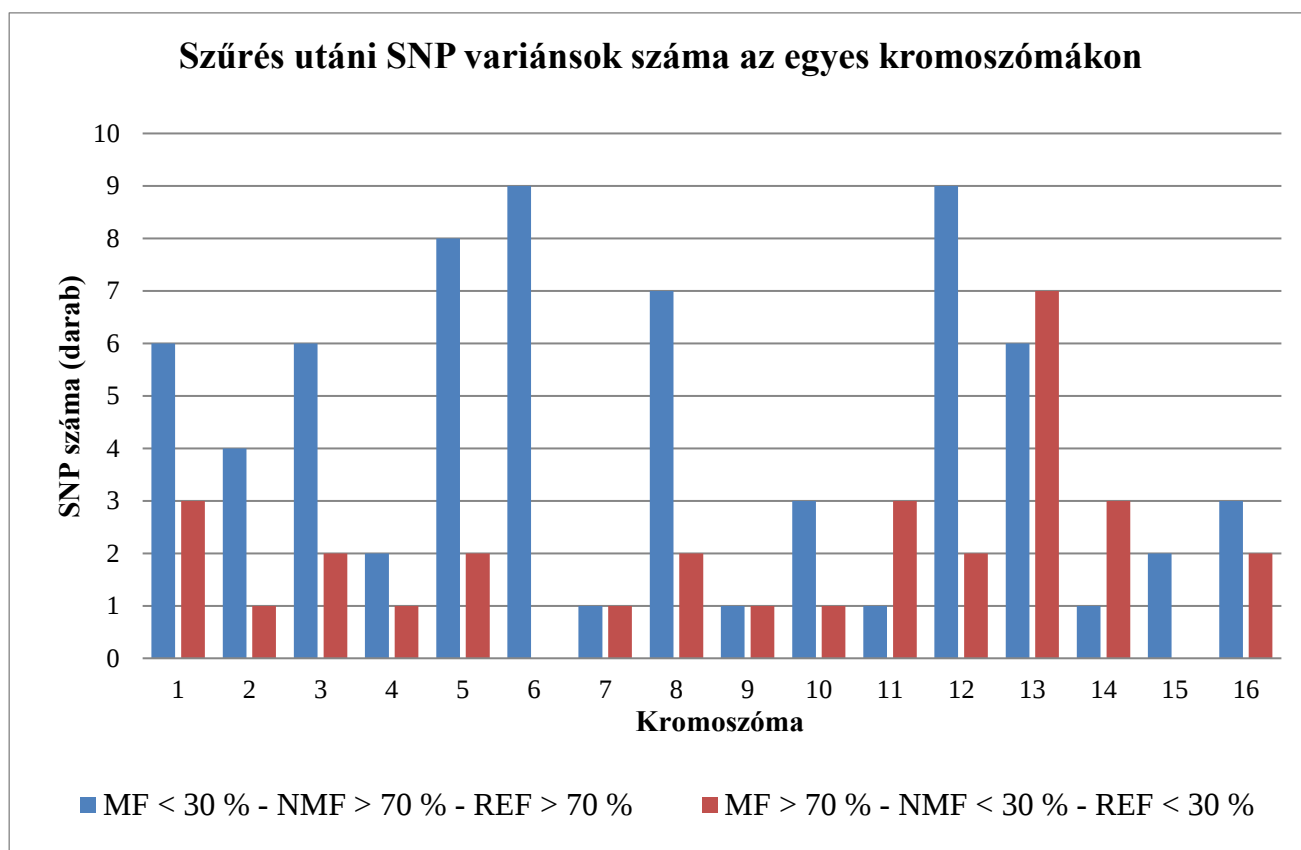


22. ábra: Főkomponens elemzés (PCA): három vizsgált méhcsoporthat (MF, NMF, REF) egyedeinek egymáshoz való viszonya 5-98 % gyakorisággal előforduló SNP variánsok alapján

MF (piros) – fajtastandardnak megfelelt pannon méhek, NMF (zöld) – morfológiailag hibás pannon méhek, REF (kék) – Buckfast hibrid, olasz méh x Buckfast hibrid, és olasz méh alfajok egyedei

Ennek eredményeként elmondható, hogy a REF csoport nagyon szépen elkülönült az MF és az NMF egyedektől. Ezzel szemben az MF és NMF méhek némileg átfedést mutattak, mint ahogy a mikroszatellit analízis során is. Ugyanakkor megjegyzendő, hogy jelen esetben az MF csoport, vagyis a fajtastandardnak megfelelt pannon méhek egy sokkal koncentráltabb csoportot alkottak, míg az NMF csoport egyedei meglehetősen szórta helyezkedtek el az ábrán.

A variánsok kétféle megközelítésből (70-30 % és 30-70 %) történő szűrését követően oszlopdiagrammon ábrázoltam azok kromoszómákon való elhelyezkedését. Ahol a variánsok gyakorisága 70 % felett volt az MF csoportban, és 30 % alatt az NMF és REF egyedeknél, a 6. és 15. kromoszómán nem volt kimutatható SNP, míg a legtöbb eltérés (7) a 13. kromoszómán volt megfigyelhető. Ahol az alternatív allél gyakorisága 30 % alatti volt az MF esetén, és 70 % feletti az NMF és REF csoportokban, a legnagyobb számú SNP (9) a 6. és a 12. kromoszómán fordult elő, míg a legkevesebb (1) a 7., 9. és 14. kromoszómákon (23. ábra).



23. ábra: Az adatok szűrését követő SNP variánsok száma az egyes kromoszómákon

MF – fajtastandardnak megfelelt pannon méhek, NMF – morfológiailag hibás pannon méhek,

REF – Buckfast hibrid, olasz méh x Buckfast hibrid, és olasz méh alfajok egyedei

Összességében elmondható, hogy az adatok szűrését követően is, a detektált SNP variánsok viszonylag jól lefedik a genom egészét.

A variánsok számának csökkentése során 31 olyan alternatív allélt (SNP) határoztam meg, melyek az MF esetén legalább 70 %-os, míg az NMF és a REF csoportokban legfeljebb 30 %-os gyakorisággal fordultak elő (12. táblázat).

12. táblázat: SNP variánsok, melyek a fajtastandardnak megfelelt pannon méheket jellemzik legalább 70 %-os előfordulási gyakorisággal

Kromoszóma	Pozíció (bp)	Amel_HAv3.1	ALT	Alternatív allél gyakorisága (%)			
				MF	NMF	REF	ÖSSZES
LG1	1202154	C	T	72,4	20,7	17,2	63,2
LG1	23281646	C	T	79,3	17,2	17,2	62,1
LG1	23281730	G	A	82,8	20,7	13,8	60,9
LG2	9389251	C	T	75,9	27,6	27,6	56,3
LG3	3610110	T	C	72,4	20,7	24,1	60,9
LG3	13498219	A	G	72,4	27,6	17,2	60,9
LG4	10720125	C	T	72,4	10,3	10,3	69,0
LG5	4313754	C	G	79,3	17,2	20,7	60,9
LG5	8134791	T	A	79,3	27,6	27,6	55,2
LG7	1598152	G	A	72,4	27,6	24,1	58,6
LG8	8475778	A	G	72,4	24,1	27,6	58,6
LG8	8475783	T	C	72,4	27,6	27,6	57,5
LG9	10601925	T	C	75,9	27,6	20,7	58,6
LG10	1965531	G	A	75,9	17,2	20,7	62,1
LG11	12390665	C	T	72,4	27,6	24,1	58,6
LG11	12390669	C	T	72,4	27,6	24,1	58,6
LG11	12390743	G	A	72,4	27,6	24,1	58,6
LG12	3766619	T	A	79,3	20,7	24,1	58,6
LG12	5369881	G	A	72,4	10,3	20,7	65,5
LG13	2373719	G	A	72,4	27,6	27,6	57,5
LG13	3408464	G	A	72,4	27,6	27,6	57,5
LG13	6734144	C	T	72,4	24,1	24,1	59,8
LG13	7147204	G	A	72,4	27,6	20,7	59,8
LG13	10938965	G	A	75,9	24,1	20,7	59,8
LG13	10939021	G	A	72,4	24,1	20,7	60,9
LG13	10939038	T	C	72,4	24,1	20,7	60,9
LG14	3738693	C	T	72,4	20,7	10,3	65,5
LG14	6129500	C	T	82,8	10,3	24,1	60,9
LG14	6129566	G	A	79,3	10,3	24,1	62,1
LG16	2504968	G	A	72,4	24,1	20,7	60,9
LG16	5067648	C	T	72,4	24,1	27,6	58,6

LG1-16 – *Apis mellifera* kromoszóma száma, Amel_HAv3.1 – génbanki referencia szekvencia allélja (referencia allél), ALT – alternatív allél, amely a vizsgálatban előfordult

MF – fajtastandardnak megfelelt pannon méhek, NMF – morfológiailag hibás pannon méhek, REF – Buckfast hibrid, olasz méh x Buckfast hibrid, és olasz méh alfajok egyedei

Ezzel szemben 69 olyan variánst azonosítottam, amelyek az MF csoportban legfeljebb 30 %-os, míg az NMF és a REF esetén legalább 70 %-os gyakorisággal voltak jelen, vagyis inkább a morfológiai hibával rendelkező, és az egyéb, hazánkban előforduló alfajok egyedeire jellemzőek (13. táblázat).

13. táblázat: SNP variánsok, melyek a morfológiai hibával rendelkező, és a hazánkban előforduló egyéb alfajok egyedeit jellemzik legalább 70 %-os előfordulási gyakorisággal

Kromoszóma	Pozíció	Amel_HAv3.1	ALT	Alternatív allél gyakorisága (%)			
				MF	NMF	REF	ÖSSZES
LG1	4136757	C	T	27,6	75,9	75,9	40,2
LG1	9715782	C	T	24,1	72,4	82,8	40,2
LG1	25199030	T	C	24,1	72,4	79,3	41,4
LG1	26242435	T	C	24,1	72,4	72,4	43,7
LG1	26242439	T	C	24,1	72,4	72,4	43,7
LG1	27733472	C	T	27,6	82,8	75,9	37,9
LG2	10991844	T	C	24,1	72,4	72,4	43,7
LG2	14934170	A	G	24,1	72,4	72,4	43,7
LG2	15059464	T	A	24,1	75,9	79,3	40,2
LG2	15059493	A	G	27,6	75,9	79,3	39,1
LG3	5861512	G	A	27,6	82,8	75,9	37,9
LG3	5861684	C	T	27,6	72,4	82,8	39,1
LG3	7241042	G	C	27,6	79,3	82,8	36,8
LG3	7946522	C	T	27,6	75,9	72,4	41,4
LG3	7946531	T	C	27,6	75,9	72,4	41,4
LG3	8425607	C	T	27,6	72,4	96,6	34,5
LG4	9314597	T	C	24,1	75,9	75,9	41,4
LG4	11607945	T	C	24,1	72,4	72,4	43,7
LG5	6953399	T	C	17,2	72,4	72,4	46,0
LG5	8017367	T	C	17,2	72,4	75,9	44,8
LG5	8017510	A	G	20,7	75,9	82,8	40,2
LG5	8812571	C	T	24,1	75,9	72,4	42,5
LG5	12170608	T	C	24,1	82,8	75,9	39,1
LG5	12915804	A	G	27,6	72,4	72,4	42,5
LG5	12915828	T	C	27,6	72,4	72,4	42,5
LG5	12915831	A	G	27,6	72,4	72,4	42,5
LG6	3175402	G	A	27,6	75,9	75,9	40,2
LG6	3175516	T	C	27,6	75,9	75,9	40,2
LG6	3175524	T	C	27,6	75,9	75,9	40,2
LG6	3175599	T	C	27,6	75,9	72,4	41,4
LG6	10147194	T	G	27,6	72,4	96,6	34,5
LG6	10168167	A	G	24,1	72,4	72,4	43,7
LG6	10168261	G	A	27,6	72,4	72,4	42,5
LG6	12440745	T	C	27,6	72,4	79,3	40,2
LG6	13763725	C	T	24,1	75,9	75,9	41,4
LG7	3312824	G	A	27,6	89,7	86,2	32,2

LG8	1223748	T	C	27,6	72,4	79,3	40,2
LG8	7433904	T	C	24,1	75,9	79,3	40,2
LG8	9523168	A	G	27,6	72,4	93,1	35,6
LG8	9523190	T	C	27,6	72,4	75,9	41,4
LG8	9523215	T	C	27,6	72,4	75,9	41,4
LG8	9523229	T	C	24,1	72,4	75,9	42,5
LG8	9523324	A	G	27,6	72,4	82,8	39,1
LG9	8798510	C	T	20,7	79,3	72,4	42,5
LG10	12213608	G	A	27,6	72,4	82,8	39,1
LG10	12214100	G	A	27,6	72,4	82,8	39,1
LG10	12214106	T	A	27,6	72,4	82,8	39,1
LG11	1125970	C	T	20,7	72,4	86,2	40,2
LG12	707890	G	A	27,6	75,9	82,8	37,9
LG12	707907	G	A	27,6	75,9	82,8	37,9
LG12	707916	A	G	27,6	75,9	82,8	37,9
LG12	707934	T	C	27,6	75,9	82,8	37,9
LG12	707951	G	C	27,6	72,4	82,8	39,1
LG12	707984	C	G	27,6	72,4	82,8	39,1
LG12	708010	G	A	27,6	72,4	82,8	39,1
LG12	708018	T	C	27,6	72,4	82,8	39,1
LG12	5771687	T	C	27,6	72,4	75,9	41,4
LG13	8903422	T	C	24,1	75,9	72,4	42,5
LG13	8903649	G	C	20,7	72,4	75,9	43,7
LG13	8903661	G	A	20,7	72,4	75,9	43,7
LG13	8903859	G	A	24,1	79,3	86,2	36,8
LG13	8903910	G	A	24,1	79,3	86,2	36,8
LG13	8903920	C	T	24,1	79,3	82,8	37,9
LG14	6256411	A	G	24,1	75,9	72,4	42,5
LG15	3548220	G	A	24,1	86,2	79,3	36,8
LG15	7191213	G	A	27,6	75,9	89,7	35,6
LG16	5199669	T	A	24,1	79,3	75,9	40,2
LG16	5199671	C	G	24,1	79,3	75,9	40,2
LG16	5199674	C	A	24,1	79,3	75,9	40,2

LG1-16 – *Apis mellifera* kromoszóma száma, Amel_HAv3.1 – génbanki referencia szekvencia allélja (referencia allél), ALT – alternatív allél, amely a vizsgálatban előfordult, MF – fajtastandardnak megfelelt pannon méhek, NMF – morfológiailag hibás pannon méhek, REF – Buckfast hibrid, olasz méh x Buckfast hibrid, és olasz méh alfajok egyedei

6. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

6.1. A mitokondriális DNS adatok értelmezése és jelentősége

A pannon méh evolúciós eredetét a tRNA^{Leu-cox2} intergénikus mitokondriális régió (*COI-COII*) vizsgálata alapján határoztam meg. Megállapítottam, hogy a vizsgált méhcsoporthoz minden egyede a C evolúciós vonal valamely haplotípusához tartozott. Ez a vonal az észak-mediterrán térséghez tartozó alfajokat foglalja magában, úgymint az olasz és a krajnai méhet is. A minták összesen hat különböző haplotípusba voltak sorolhatók a hat polimorf hely alapján, melyek mindegyikét azonosítottam az NCBI adatbázisban, és az általánosan elfogadott nevezéktan szerint kategorizáltam: C1, C2i, C2d, C2e, C2l és C2p. A C1 haplotípust korábban már több országban is detektálták, például Olaszországban, Ausztriában, Szlovéniában, Magyarországon, Horvátországban, Romániában, Szerbiában, Csehországban, valamint az Egyesült Államokban (Sušnik et al. 2004, Muñoz et al. 2009, Coroian et al. 2014, Muñoz & De la Rúa 2021, Alburaki et al. 2023). A C2i haplotípus jelenlétét kimutatták Szlovéniában, Romániában, Albániában, Görögországban, Szerbiában, illetve az USA-ban is (Muñoz et al. 2009, Muñoz & De la Rúa 2021, Patenković et al. 2022, Alburaki et al. 2023). A C2d haplotípus előfordulását rögzítették már Szlovéniában, Magyarországon, Horvátországban, Romániában, Albániában, Bulgáriában, Görögországban, Szerbiában, Észak-macedóniai Köztársaságban és az Egyesült Államokban (Sušnik et al. 2004, Muñoz et al. 2009, Mărghitaș et al. 2010, Coroian et al. 2014, Muñoz & De la Rúa 2021, Patenković et al. 2022, Alburaki et al. 2023). A C2e haplotípust eddig Ausztriában, Szlovéniában, Magyarországon, Horvátországban, Montenegróban, Romániában, és Szerbiában detektálták (Muñoz et al. 2009, Coroian et al. 2014, Muñoz & De la Rúa 2021, Patenković et al. 2022), míg a C2l haplotípus jelenlétét Bulgáriában és Szerbiában regisztrálták (Muñoz & De la Rúa 2021, Patenković et al. 2022). A C2p haplotípust Románia és Szerbia térségében azonosították (Coroian et al. 2014, Muñoz & De la Rúa 2021). Fontos megjegyezni, hogy a C2i, a C2l és a C2p haplotípusok jelenlétét korábban nem mutatták ki magyarországi méhekben. Az O evolúciós vonalba tartozó haplotípusok együtt csoportosultak a C vonalat reprezentáló haplotípusokkal (14. ábra), mely alátámasztja Tihelka és munkatársai (2020) megállapítását, miszerint a két vonal nagy valószínűséggel egy monofiletikus csoportot alkot. A fajtastandardnak megfelelt pannon méh (MF) mitokondriális régióinak változatosságát tekintve megállapítható, hogy a szintén C evolúciós vonalhoz tartozó szerb és amerikai populációkhoz képest alacsonyabb a haplotípus diverzitásuk, ugyanakkor a nukleotid diverzitásuk magasabb (Patenković et al. 2022, Alburaki et al. 2023). A libanoni (O evolúciós vonal) és a svájci (M evolúciós vonal) populációk esetében a diverzitási

értékek meghaladták a fajtastandardnak megfelelt pannon méhekét, azonban ezek elmaradtak a guineai (A vonal) és a francia (M vonal) méhállományok diverzitási szintjétől (Franck et al. 2000).

A másik két mitokondriális DNS régióhoz tartozó haplotípusok közül a *COI* esetében egyik sem szerepelt az NCBI adatbázisában, míg a *16S* régióhoz tartozó négy haplotípus közül kettőt már korábban detektáltak. A *COI* gén diverzitási eredményeinek (M9. melléklet) összehasonlítása egy korábbi, Magyarországon végzett vizsgálattal (Péntek-Zakar et al. 2015) azt mutatta, hogy a jelenlegi tanulmányban alacsonyabb volt a fajtastandardnak megfelelt pannon méhek (MF) haplotípus és nukleotid diverzitása is. A *COI* génben két polimorfizmus aminosav-változást okozott az NCBI adatbázisban szereplő szekvenciához (Génbanki azonosító: NC_051932.1, Génazonosító: 60455728) képest: izoleucin helyett metionin, illetve valin helyett izoleucin transzlálódott. A polimorfizmusok kódoló régiókban helyezkednek el, és a méhekre gyakorolt hatásuk megállapítása további vizsgálatokat igényel.

A mesterségesen összevont szekvenciák (*COI*, *16S*) vizsgálata alapján a legtöbb haplotípus egy csoportba sorolódott, kivéve a H6. A minták többsége a C evolúciós vonalhoz tartozó egyedekhez állt a legközelebb (99,43 %-os hasonlóság), úgymint az olasz, a krajnai, a kaukázusi méh, a Buckfast hibrid, és az *Apis mellifera carpatica* (Garnery et al. 1992, Moskríc et al. 2022). A H6 haplotípus nyolc olyan Buckfast egyedet tartalmazott, amelyek több mint 99,7 %-os genetikai hasonlóságot mutattak a fokföldi (Génbanki azonosító: KX870183.1), az észak-afrikai (*Apis mellifera intermissa*, Szalainé Mátray 2002), Génbanki azonosító: KM458618.1) és az *Apis mellifera iberiensis* (Szalainé Mátray 2002) (Génbanki azonosító: MN585110.1) alfajokkal. Ezek az alfajok az A evolúciós vonalba tartozó haplotípusok közé tartoznak (Moškrič et al. 2022). Több helyről származó Buckfast hibrid vett részt a tanulmányban, melyek nemesítése során afrikai eredetű (A evolúciós vonalba tartozó) egyiptomi méheket is felhasználtak. A vonal stabilizálása összességében csaknem 60 évet ölelt fel, mely idő alatt az egyedek genetikai állománya is folyamatosan változott. Ezen felül a „Buckfast hibrid” nevet, mint márkát, nemcsak a védjegy használati jogát birtoklók alkalmazták, hanem számos más tenyésztő adta el ezen a néven méhanyáit, méhcsaládjait, vagyis a Buckfast hibridek genetikai állománya meglehetősen változatos (Faugere & Dussy 2023). Ugyanezen minták értékelésére nem került sor a tRNA_{Leu-cox2} intergénikus mitokondriális régiója (*COI-COII*) alapján, a rossz minőségű szekvenciák, a gyenge olvashatóság miatt. Esetükben a szekvenciák hossza – a többitől eltérően, melyek 400 bp körüliek – 800 bp volt, amit agaróz gélelektroforézissel is megerősítettem. Ez az evolúciós vonalak közötti hosszpolimorfizmusnak (Garnery et al. 1992) vagy heteroplazmiának (Meusel & Moritz 1993) is tulajdonítható. Emellett már szinte minden vizsgált eukarióta élőlényben kimutatták a nukleáris mitokondriális DNS szekvenciák (nuclear mitochondrial DNA segments, NUMTs) jelenlétét (Zhang & Hewitt 1997), ami szintén okozhatja ezt a méretbeli különbséget. A

tanulmányok szerint majdnem minden mitokondriális genomi régió integrálható az eukarióta szervezetek nukleáris genomjába (Mishmar et al. 2004), azonban ennek megerősítésére további vizsgálatokra van szükség.

A mesterségesen összevont szekvenciák mitokondriális diverzitás értékei alapján megállapítottam, hogy a fajtastandardnak megfelelt pannon méhek genetikai állománya jóval homogénebb, míg a REF csoportban nagyobb mértékű volt a variabilitás. Ez összhangban van a mikroszatellit analízis eredményeivel is. Ennek oka abban keresendő, hogy a REF csoportot különböző alfajok alkották, míg az MF ugyan 16 méhanya nevelőtől, Magyarország területét jól lefedő méhészetekből, ám kizárólag pannon méhekből állt. A populációk történeti folyamataira jellemző Tajima-féle D és Fu-féle F_s értékek fontos információt nyújtanak a vizsgált csoportok evolúciós múltjáról. Mindkét érték arra utal, hogy a közelmúltban a pannon méheknél populációnövekedés, vagy pozitív szelekció, míg a másik három csoportban populációméret csökkenés, vagy balancing (kiegyensúlyozó) szelekció következhetett be.

6.2. A vizsgált méhcsoporthok genetikai diverzitása mikroszatellit markerek alapján

A mikroszatellit analízis során a legmagasabb átlagos allélszám az MF csoportban volt ($MNA = 9,3$ (64 minta)), azonban a korábbi, magyar méheken végzett vizsgálatoknál magasabb értéket mértek ($MNA = 14,3$ (233 minta) (Péntek-Zakar et al. 2015), $MNA = 14$, (237 egyed) (Tanasković et al. 2022)). A különbség oka eredhet az eltérő mintaszámból is. A horvátországi krajnai méh ($MNA = 11,0$ (90 minta)), az olaszországi olasz méh ($MNA = 9,6$ (67 minta)), a görögországi macedón méh ($MNA = 10,2$ (19 minta)), a dél- és észak-szerbiai krajnai méh ($MNA = 10,2$ (105 minta), $MNA = 10,4$ (131 egyed)), a szlovák krajnai méh ($MNA = 11,5$ (79 minta)) egyedekhez képest a hazai állomány átlagos allélszáma alacsonyabb volt (Muñoz et al. 2009, Štastný et al. 2017, Tanasković et al. 2022). Azonban a lengyelországi krajnai méh ($MNA = 7,6$ (21 minta)), a magyarországi Buckfast hibrid ($MNA = 4,3$ (10 minta)), a skandináviai sötét európai méh ($MNA = 4,6$ (24 egyed)), valamint a kínai olasz méh ($MNA = 7,5$ (144 minta)) populációk alacsonyabb értékeket mutattak (Yin et al. 2011, Štastný et al. 2017, Tanasković et al. 2022).

A heterozigotizációs értékek összehasonlítása során az M evolúciós vonalhoz tartozó sötét európai méh ($H_E = 0,276$, $H_O = 0,250$), illetve a dél- és észak-szerbiai krajnai méh ($H_E = 0,522$, $H_O = 0,465$; $H_E = 0,478$, $H_O = 0,400$), a skandináviai sötét európai méh ($H_O = 0,346$), valamint a kínai olasz méh ($H_E = 0,533$, $H_O = 0,521$) populációk (C evolúciós vonal) alacsonyabb értékkel rendelkeztek az általam vizsgált mintákhoz képest ($H_E = 0,545$, $H_O = 0,587$) (Yin et al. 2011, Ilyasov et al. 2016, Štastný et al. 2017, Tanasković et al. 2022). Ezzel szemben a lengyelországi krajnai méh ($H_E = 0,747$, $H_O = 0,905$), a szlovák krajnai méh ($H_O = 0,702$) és a magyarországi Buckfast hibrid ($H_E = 0,644$, $H_O = 0,843$) állományok magasabb értékkel bírtak (Štastný et al.

2017, Tanasković et al. 2022). Szintén magasabb heterozigotitást mutattak ki a Magyarországon korábban végzett vizsgálatban is ($H_E = 0,658$, $H_O = 0,896$), akárcsak a horvátországi krajnai ($H_E = 0,719$, $H_O = 0,674$), az olaszországi olasz ($H_E = 0,645$, $H_O = 0,638$) és a görögországi macedón méh ($H_E = 0,796$, $H_O = 0,758$) állományokban (Muñoz et al. 2009, Péntek-Zakar et al. 2015, Tanasković et al. 2022).

A fajtastandardnak megfelelt pannon méhek (MF) csoportja szignifikáns eltérést mutatott a Hardy-Weinberg egyensúly állapotától. Ennek oka feltehetően valamilyen szelekciós hatás, de azzal is magyarázható, hogy a vizsgált csoport az ország különböző méhészeti régióiból származó egyedekből tevődik össze, a szó szoros értelmében nem tekinthető egy populációnak. Ezt alátámasztja, hogy egy korábbi vizsgálatban, amelyben a méhanya nevelők állományait külön-külön vizsgálták, a legtöbb közel állt az ideális populáció állapotához (Balázs et al. 2023). Mikor kialakítottam a tanulmányban vizsgált megfelelt (MF) és nem megfelelt (NMF) méhcsoportokat, némileg csökkent a heterozigóta egyedek aránya a korábbiakhoz képest, és az bomlaszthatta az ideális populáció állapotát. A referencia (REF) és krajnai (KRAJ) méhek csoportja azonban Hardy-Weinberg egyensúlyban voltak. A referencia csoportban nagyon magas volt a heterozigóták aránya, és bár különböző alfajokból összeállított, kevert populációról van szó, sokkal kevesebb helyről származó és kevesebb mintát tartalmaz, akárcsak a krajnai méhek esetében. Nem tapasztaltam a csoportokban genetikai strukturáltság jelét, melyet leginkább a klaszteranalízis erősített meg (19. ábra). Aszerint mindkét mesterséges populáció a legvalószínűbb csoportosítás esetén határozottan elkülönült a többi méhcsoporttól, sőt, a referencia már az első klasztereződésnél is, ahol két csoportba sorolta a program az egyedeket. Ez köszönhető annak, hogy az olasz méhek régóta keverednek Buckfast hibridekkel, vagyis a genetikai különbség köztük kicsi, így viselkedhet az összeállított méhcsoport homogén populációként, a krajnai méhek pedig nagyon kis mintaszámmal vettek részt a vizsgálatban.

A morfológiailag megfelelt pannon méhek csoportjában (MF) alacsony volt a beltenyésztettségi szint ($F_{IS} = 0,088$), hasonlóan egy korábbi, hazai állományokat vizsgáló tanulmányban ($F_{IS} = 0,366$), ahol fragmentálódásra utaló jeleket figyeltek meg (Péntek-Zakar et al. 2015).

A mikroszatellit analízis során számos ritka allélt (allélgyakoriság $< 10\%$) azonosítottam, melyek közül több is akadt, melyek kizárólag az MF vagy a REF állományokban voltak kimutathatók. A jelentős számú unikális allél hozzájárulhat ugyan a megfelelő mértékű genetikai diverzitás kialakulásához, azonban alacsony gyakoriságuk miatt nem tekinthetők megkülönböztető markernek, könnyen elveszhetnek a generációk során.

A fentiek értelmében kijelenthető, hogy a hazánkban fenntartott, a fajtastandardnak megfelelt pannon méhek variabilitása megfelelő szintű, genetikai állapota kielégítő.

A különböző populációgenetikai statisztikai elemzések (páronkénti F_{ST} , PCoA, DAPC, STRUCTURE analízis) eredményei alapján megállapítható, hogy a fajtastandardnak megfelelt pannon méhek mindig együtt csoportosultak, és jól elkülönültek az egyéb, hazánkban előforduló egyéb alfajok csoportjától (REF). A morfológiailag hibás pannon méhek (NMF) genetikai értelemben szoros közelséget mutattak azokkal. Ugyanakkor a két csoport (MF, NMF) között enyhe különbség figyelhető meg genetikai szinten, nemcsak fenotípusosan. A nagymértékű genetikai hasonlóság arra utal, hogy ha került is be idegen genetikai anyag a magyarországi pannon méhekbe, az nem napjainkban történt, hanem régebben, vélhetően különböző generációs sorokban.

A morfológiailag hibás állomány (NMF) és a krajnai méhek (KRAJ) között hasonlóság fedezhető fel, míg a fajtastandardnak megfelelt pannon méhek csoportja nagyobb genetikai távolságot mutatott a krajnai méhektől. Ez az eltérés feltehetően a két variáns korábbi hibridizációjának következménye, amelyet több generáció alatt befolyásolhatott a természetes (környezethez való alkalmazkodás) és a mesterséges szelekció (méhészeti munka, morfológia alapján történő szelekció) is.

Mindezek alapján megállapítható, hogy az évek óta végzett morfológiai fajtaminősítés feltehetően alkalmas a pannon méhek fajtatisztaságának megőrzésére, fenntartására, az állományban vélhetően nincs jelentős genetikai szennyeződés. Ugyanakkor az idegen genetikai anyaggal rendelkező méhek kiszűrésében a molekuláris genetikai nagy segítség lehet a fenotípusos szelekció mellett. Az eredmények összességében alátámasztják a pannon méh önálló fajtaként való elismerését.

A mikroszatellit marker analízis eredményeit alapul véve történt meg az SNP vizsgálatokhoz felhasznált méhminták nagyon gondos, alapos válogatása, hogy egy releváns mintakollekció vehessen részt a teljes genom szekvenálásban. Vagyis nemcsak a morfológiai fajtaminősítés eredményeire hagyatkozva, hanem mikroszatellit alapú populációgenetikai analízisek alapján is szelektáltam azokat. A két mintakollekció (144 és 87 minta) ezen eredményeit összehasonlítva azt mondhatjuk, hogy sem a heterozigotizáció megfelelő mértékét, sem a beltenyésztettség szintet nem rontotta jelentősen a mintaszám csökkentése (9., 11. táblázat). A PCoA elemzések összevetése során (16., 20. ábra) azt tapasztaltam, hogy a redukált elemszámmal rendelkező csoportok egymástól való elkülönülése sokkal határozottabb volt, főképpen a hazánkban előforduló egyéb mézelő méh alfajok csoportjától (REF). Ezt alátámasztotta a STRUCTURE analízis is (19., 21. ábra), ahol mindkét esetben a legvalószínűbb klasztereződés alapján három csoportba sorolódtak a minták, függetlenül attól, hogy a nagyobb elemszámmal rendelkező (144 minta), vagy a csökkentett egyedszámú (87 minta) mintagyűjteményt vizsgáltam. Mindezek alapján megállapítható, hogy egy valóban megfelelő mintakollekciót sikerült kiválogatni a nagyobb felbontású SNP markerelemzésre, mely leginkább a fajtastandardnak

megfelelt pannon méheket (MF) érintette, és a kiválasztott minták jól reprezentálják a vizsgált méhcsoportokat (MF, NMF, REF).

6.3. SNP variánsok vizsgálatából levonható következtetések

Az SNP alapú elemzések megerősítették a mikroszatellit analízis eredményeit, miszerint a REF csoport nagyobb genetikai változatosságot, és viszonylag nagy genetikai különbséget mutatott a pannon eredetű méhektől (MF, NMF). A fajtastandardnak megfelelő pannon méhek (MF) és a morfológiailag hibás egyedek (NMF) között szintén részleges átfedést tapasztaltam, még több mint 5 millió SNP variáns alapján is. Habár a két csoport között (MF, NMF) bizonyos mértékű genetikai hasonlóság volt, megjegyzendő, hogy SNP variánsok alapján a fajtastandardnak megfelelő pannon méhek (MF) egy sokkal koncentráltabb kört alkottak, és közelebb helyezkedtek el egymáshoz, mint a mikroszatellit analízis során. Ezzel szemben a morfológiailag hibás egyedek (NMF) meglehetősen szórta helyezkedtek el az koordináta rendszerben (22. ábra). Mindebből arra következtethetünk, hogy ámbár az SNP alapú markerelemzés valóban pontosabb képet nyújt a genetikai állományról, hasonló eredmények várhatóak elegendő számú mikroszatellit marker használata esetén is. Emellett a nagyobb felbontású, SNP alapú markerkutató még mindig sokkal költségesebb, és elengedhetetlen hozzá a megfelelő laboratóriumi infrastruktúra, a bioinformatikai háttér és számítógépes kapacitás. Mindez a mikroszatellit markerekkel való munkát még mindig előnyössé teszi a genetikai sokféleség vizsgálata szempontjából, hiszen viszonylag egyszerű laboratóriumi körülmények között, olcsóbban és rutinszerűen végezhető velük az állományok genetikai diverzitásának felmérése. Nem mellékesen, a genetikai variabilitás változása az állományok időről-időre történő monitorozásával nagyon jól jelezhető mikroszatellit markerek alapján, melynek a génmegőrzésben van óriási jelentősége.

A bioinformatikai elemzés során 100 SNP került azonosításra, melyek felhasználhatóak lehetnek a pannon méh azonosítására és/vagy az idegen genetikai anyaggal rendelkező méhek kiszűrésére. Az SNP variánsok közül 31 a fajtastandardnak megfelelő pannon méhekre (MF) jellemző (12. táblázat), míg 69 a morfológiailag hibás (NMF), és a hazánkban előforduló egyéb alfajok (REF) egyedeiben található meg 70 % feletti gyakorisággal (13. táblázat). Nagyon fontos, hogy a teljes genomot lefedő SNP vizsgálatok során azonosított genetikai polimorfizmusok csak megfelelő validálást követően használhatóak fel a gyakorlatban. Ezért a kiválasztott SNP variánsok azonosításához allélspecifikus primerek tervezésére és azok alkalmazására van szükség ahhoz, hogy nagyobb egyedszámmal lehessen elvégezni a genotipizálást. Ennek függvényében állíthatunk fel olyan SNP panelt vagy chipet, melyek alkalmasak lehetnek a pannon méh fajtaazonossági vizsgálatára, illetve az idegen genetikai anyaggal rendelkező méhek kiszűrhetőek lehetnek.

Számos vizsgálat indult az alfaj szintű azonosításra alkalmas pontmutációk detektálására annak érdekében, hogy állományait megvédjék a fajtaidegen méhekkel történő hibridizációtól. Muñoz és munkatársai (2015) tanulmányukban elsőként dolgoztak ki, validáltak és teszteltek csökkentett számú, úgynevezett ancestry informative marker (AIM) paneleket mézelő méhekre. A vizsgálat során az 1.183 SNP-t tartalmazó teljes adatkészletet hasonlították össze különböző méretű csökkentett panelekkel (48, 96, 144, 192 AIM), értékelve azok alkalmasságát a C evolúciós vonalhoz tartozó méh egyedek okozta introgresszió kimutatására, valamint az egyedek származásának meghatározására. Már a legkisebb, 48 pontmutációt tartalmazó panel esetén is jó eredményeket értek el. A sötét európai méh (M evolúciós vonal) és a C vonalhoz tartozó egyedek (krajnai, olasz méh, Buckfast-hibrid) elkülönítésére Parejo és munkatársai (2016) kifejlesztettek egy 50 SNP-t tartalmazó panelt, amely az UncorrFST-50 nevet kapta. Ezzel a panellel nemcsak a honos és az idegen fajták keveredése mutatható ki, hanem az egymáshoz való genetikai viszonyuk is meghatározható, így génmegőrzési programokban is alkalmazható. Ugyanakkor a Buckfast hibrid kevert eredete miatt a hibridizáció kimutatása ebben az esetben nehezebb lehet, mint a tiszta C vonalú méhek esetében. A csökkentett számú variánst tartalmazó SNP paneleket ígéretes eszközként tartják számon a természetvédelmi célú tenyésztési programokban, melyek célja a genetikai állományok megbízható azonosítása. Ez különösen fontos az (EC) No. 1804/1999 tanácsi rendelet értelmében, amely előírja, hogy az ökológiai gazdálkodásban „előnyben kell részesíteni az európai *Apis mellifera* fajták és helyi ökotípusok alkalmazását” (De la Rúa et al. 2009). A tanulmányhoz hasonló méretű SNP panelek esetében más kutatások is jó tapasztalatokról számoltak be, azonban megjegyzendő, hogy kevesebb, mint 25 pontmutációt tartalmazó panel a megbízhatóság jelentős csökkenéséhez vezethet (~80 %) (Storer et al. 2012, Wilkinson et al. 2012). Mivel már egyre több, nagy áteresztőképességű vizsgálati technológia elérhető, fontos, hogy a megfelelő módszert válasszuk ki az alkalmazni kívánt panelekhez, mert ez nagymértékben befolyásolja annak megbízhatóságát (Storer et al. 2012). Ugyanakkor megemlítendő, hogy a nagymértékben csökkentett pontmutációs panelek fajtaazonossági vizsgálatokra, idegen genetikai anyag esetleges jelenlétének kimutatására inkább alkalmasak, mintsem a klasszikus populációgenetikai vizsgálatokra (Muñoz et al. 2015).

6.4. Javaslatok

Vizsgálati eredményeim alapján az alábbi javaslatokat fogalmazom meg:

- A vizsgálatban használt mikroszatellit markerek alapján javaslom a méhanya tenyésztők állományainak időről-időre történő, rendszeres monitorozását, mellyel nyomon követhető a pannon méh genetikai sokszínűsége és ellenőrizhető annak fajtatisztasága, ami hasznos információt nyújthat a méhtenyésztők számára.
- Javaslom a SNP analízis során nyert, 5-98 %-os allélgyakoriságú SNP variánsok további populációgenetikai statisztikai módszerekkel (DAPC, STRUCTURE) történő elemzését, hogy minél pontosabb képet kapjunk a magyarországi méhanya tenyésztők állományainak genetikai állapotáról.
- Javaslom a fajtastandardnak megfelelt pannon méhekre (31 SNP), és a hazánkban előforduló egyéb alfajokra (69 SNP) jellemző SNP variánsok validálását, hogy megbízható SNP panelt lehessen felállítani, mellyel a Magyarországon tenyésztett pannon méh azonosítható, az idegen genetikai anyaggal rendelkező méhek pedig kiszűrhetőek lehetnek.
- Stabil fajtaprofil létrehozása esetén javaslom a morfológiai fajtaminősítés mellett a genetikai vizsgálatok elvégzését is, így molekuláris genetikai módszerekkel kiszűrhetőek lehetnek a fenotípusosan nem egyértelmű egyedek, melyek idegen genetikai anyagot hordozhatnak.
- Eredményeim összességében alátámasztják a magyarországi pannon méh önálló fajtaként való elismerését, ugyanakkor javaslom azok összehasonlítását további, a környező országokban honos krajnai méh (*Apis mellifera carnica*) állományokkal SNP variánsok alapján is a pontosabb kép megalkotása végett.

7. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Meghatároztam a Magyarországon tenyésztett, fajtastandardnak megfelelt pannon méhek evolúciós eredetét, miszerint azok a C evolúciós vonalhoz tartoznak a mitokondriális DNS tRNA_{leu-cox2} intergénikus régió (*COI-COII*) alapján. Három olyan haplotípust azonosítottam, melyeket eddig csak külföldi méh populációkban detektáltak.
2. A mitokondriális DNS *COI* régiójában öt, míg a *16S* régióban két új egyedi, az NCBI adatbázisában még nem fellelhető haplotípust azonosítottam a hazai pannon méh állományban.
3. Magyarország jelentős méhészeti régióit lefedő méhanya tenyészetekből származó, a fajtastandardnak fenotípusosan megfelelt pannon méheket összehasonlítottam morfológiai hibával rendelkező egyedekkel. Megállapítottam, hogy csekély mértékű, ám kimutatható genetikai különbség van köztük.
4. Molekuláris genetikai módszerekkel megerősítettem, hogy a Magyarországon tenyésztett pannon méhek morfológiai fajtabélyegek alapján történő minősítése megfelelő, igazoltam a fenotípuson alapuló szelekciós módszer jelentőségét és relevanciáját a fajtatiszta pannon méh állományok megőrzésében és fenntartásában.
5. 31 olyan SNP variánst azonosítottam a Magyarországon tenyésztett, fajtastandardnak megfelelt pannon méhek genomjában, melyek megfelelő validálást követően alkalmasak lehetnek azok molekuláris genetikai azonosítására, elősegítve ezzel az állomány fajtatiszta állapotban történő megőrzését.
6. 69 olyan pontmutációt azonosítottam a pannon eredetű, ám morfológiai hibával rendelkező, és a hazánkban előforduló egyéb alfajok (olasz méh, Buckfast hibrid) egyedeinek genomjában, melyekkel validálást követően a Magyarországon fenntartott, fajtastandardnak megfelelt pannon méhekben esetlegesen előforduló idegen genetikai anyag biztonsággal kiszűrhető.

8. ÖSSZEFOGLALÁS

Az őshonos/honos mézelő méhek védelme, valamint genetikai sokféleségük megőrzése kiemelten fontos feladat. Ugyanakkor egyedi genetikai és szaporodásbiológiai sajátosságaik megnehezítik a hatékony védelmi stratégiák és módszerek kialakítását.

A vizsgálat egyik célja volt meghatározni a Magyarországon élő pannon méh evolúciós eredetét mitokondriális DNS alapján, illetve a méhanya nevelők pannon méh tenyészteti genetikai diverzitásának felmérését országszerte mikroszatellit markerek alapján. További célkitűzés volt a fajtastandardnak megfelelt magyarországi pannon méhek (MF) összehasonlítása a morfológiailag hibás egyedekkel (NMF), krajnai méhekkel (*Apis mellifera carnica*, KRAJ), és más egyéb, országunkban előforduló egyéb alfajokkal (REF) molekuláris genetikai úton. Lényeges szándék volt olyan pontmutációk detektálása, melyek jó alapot biztosítanak a pannon méh azonosítására és/vagy elkülönítésére alkalmas SNP markerpanel létrehozására.

A mitokondriális DNS vizsgálat során három régió (*COI*, *16S* gének, *tRNA^{Leu-cox2}* intergénikus régió (*COI-COII*)) szekvenciáinak diverzitása került felmérésre. A pontosabb és átfogóbb értékelés érdekében a *COI* és a *16S* szekvenciákat külön-külön, és egyben is, mesterségesen létrehozott szintetikus szekvenciák alapján értékeltem. A *16S* régióban kettő, (HS3, HS4), míg a *COI* régióban öt új, egyedi haplotípust (HC1, HC2, HC3, HC4, HC5) azonosítottam, utóbbiak közül kettőben a polimorfizmus aminosav-változást eredményezett. A *COI* és a *16S* gének együttes vizsgálata során összesen hat haplotípust detektáltam. Az evolúciós eredet vizsgálata során megállapítottam, hogy a pannon méh a C evolúciós vonalhoz tartozó haplotípusokkal egyezett meg, melyet az észak-mediterrán méhek képviselnek. Három olyan haplotípust azonosítottam, melyeket magyarországi méh állományokban eddig még nem mutattak ki (C2i, C2l, C2p). A mitokondriális diverzitás felmérése alapján azt mondhatjuk, hogy a fajtastandardnak megfelelt pannon méh (MF) állományok jóval homogénebbek, mint a hazánkban előforduló egyéb alfajok csoportja (REF), ahol nagyobb mértékű variabilitás figyelhető meg. A Tajima-féle D és Fu-féle F_s negatív értékei arra utalnak, hogy a morfológiailag megfelelt pannon méhek csoportjában (MF) a közelmúltban populációnövekedés vagy pozitív szelekció, míg a többiben (NMF, REF, KRAJ) populációméret csökkenés, vagy kiegyensúlyozó (balancing) szelekció mehetett végbe.

Az állományok genetikai sokféleségének felmérésére és egymással való összehasonlítása 20 mikroszatellit marker alkalmazásával történt. A fajtastandardnak megfelelt pannon méhek csoportja szignifikáns eltérést mutatott a Hardy-Weinberg egyensúly állapotától, melynek oka feltehetően valamilyen szelekciós hatás, vagy a csoport összetétele, hiszen az ország egész területéről származó méhanya nevelők mintáiról van szó. Az analízis során számos ritka allélt

azonosítottam, melyek hozzájárulhatnak a megfelelő genetikai diverzitási szint kialakulásához, azonban alacsony gyakoriságuk miatt (10 % alatti) nem tekinthetők megkülönböztető markernek. A különböző populációgenetikai statisztikai elemzések (páronkénti F_{ST} , PCoA, DAPC, STRUCTURE analízis) során megállapítottam, hogy a fajtastandardnak megfelelt pannon méhek szorosan együtt csoportosultak, és jól elkülönültek az egyéb, hazánkban előforduló egyéb alfajok egyedeitől. Ezzel szemben a morfológiailag hibás pannon méhek genetikai hasonlóságot mutattak azokkal, ám detektálható mértékű a két csoport közötti genetikai különbség. A morfológiailag hibás méh állomány és a krajnai méhek között némi hasonlóság fedezhető fel, míg a fajtastandardnak megfelelt pannon méhek nagyobb genetikai távolságot mutattak a krajnai méhektől. Ez valószínűleg a természetes (környezethez való alkalmazkodás) és a mesterséges szelekció (méhészeti munka, morfológia alapján történő szelekció) hatásának tulajdonítható. Mindezek alapján megállapítható, hogy az évek óta végzett fajtaminősítés fenotípusos jelleg alapján feltehetően alkalmas a pannon méhek fajtatisztaságának megőrzésére és fenntartására, az állományban vélhetően nincs jelentős genetikai szennyeződés. Ugyanakkor az idegen genetikai anyaggal rendelkező méhek kiszűrésében a molekuláris genetika alkalmazása erősen ajánlott a fenotípusos szelekció mellett.

Az SNP elemzésekben egy alaposan megválogatott, a morfológiai fajtaminősítés eredményeit is figyelembe vevő, és populációgenetikai elemzésekkel alátámasztott, releváns mintakollekció vett részt, mely jól reprezentálta a vizsgált méhcsoportokat. Az SNP analízis megerősítette a mikroszatellit alapú eredményeket, miszerint a hazánkban előforduló egyéb alfajokból álló csoport (REF) nagyobb genetikai változatosságot, és viszonylag nagy genetikai különbséget mutatott a pannon méhektől. A fajtastandardnak megfelelt pannon méhek és a morfológiailag hibás egyedek között volt átfedés, ám a morfológiailag megfelelt pannon méhek sokkal inkább együtt csoportosultak, mint az mikroszatellit markerek alapján az kimutatható volt. 100 SNP került detektálásra, melyek felhasználhatóak lehetnek a pannon méh azonosítására és/vagy az idegen genetikai anyaggal rendelkező méhek kiszűrésére. A variánsok közül 31 a fajtastandardnak megfelelt pannon méhekre volt jellemző, míg 69 SNP a morfológiailag hibás, és a hazánkban előforduló egyéb alfajok egyedeiben volt detektálható 70 % feletti allélgyakorisággal. Megjegyzendő, hogy az eredmények csak megfelelő validálást követően használhatóak fel a gyakorlatban, és annak függvényében állíthatunk fel a pannon méhek azonosítására és/vagy elkülönítésére alkalmazható SNP panelt.

A tanulmány értékes betekintést nyújt a mézelő méhek génmegőrzési stratégiáiba, rámutat a genetikai erőforrások gondos kezelésének fontosságára a fajták integritásának és genetikai tisztaságának megőrzése érdekében. Az eredmények felhasználhatóak, hozzájárulnak a méhészeti gyakorlatok fejlesztéséhez, valamint a fenntartható tenyésztési programok támogatásához.

9. SUMMARY

The protection of native honey bees and the conservation of their genetic diversity is a priority. However, their unique genetic and reproductive biological traits make it difficult to develop effective conservation strategies and methods.

One aim of this study was to determine the evolutionary origin of the Pannonian bees in Hungary based on mitochondrial DNA and assess their genetic diversity across our country based on microsatellite marker analysis. Additional aim was to compare the Pannonian bees that strictly met the morphological breed standard to those with morphological disorders, Carniolan bees (*Apis mellifera carnica*) and other subspecies found in our country with molecular genetic methods. It was importance of detecting single nucleotide polymorphisms that could provide a good basis for establishing a suitable SNP marker panel for identification and/or for differentiation of the Pannonian bee.

The mitochondrial DNA investigation was performed on three different regions (*COI*, *16S* genes, tRNA^{Leu}-cox2 intergenic region (*COI-COII*)). For a more precise and complete evaluation, the *COI* and *16S* sequences were analysed both separately and jointly, as synthetic sequences for each individual. Two new, unique haplotypes were detected in the *16S* (HS3, HS4) and five in the *COI* gene (HC1, HC2, HC3, HC4, HC5), two of which had polymorphisms that resulted amino acid changes. Based on the synthetic sequence analysis, a total of six haplotypes were identified. In the study of evolutionary origin, the individuals were found to correspond to haplotypes of the C lineage, which is represented by the North-Mediterranean honey bee subspecies. Three haplotypes were identified (C2i, C2l, C2p) in honey bees which have been not found in Hungary before. The results indicated that the Pannonian bees that met the breed standard are genetically much more homogeneous, whereas the other subspecies found in our country showed a higher level of variance. Both the Tajima's D and Fu's F_s values were found negative in the Pannonian bees that met the breed standard, which may indicate an increase in its population size or positive selection. In contrast, those values were positive in the three other groups investigated (NMF, REF, KRAJ), showing a decrease in population size or balancing selection.

Assessing the genetic diversity of the honey bee groups in this study was performed using 20 microsatellite markers. The Pannonian bees that met the breed standard showed significant deviation from the Hardy–Weinberg equilibrium, perhaps due to selection, or because of the content of the group, since the Pannonian bee samples derived from all over Hungary. The results indicated that all bee groups had high heterozygosity and low inbreeding level suggesting that their genetic status is satisfactory. Several rare, unique alleles were determined which may contribute to the genetic diversity, but because of their low allele frequencies (below 10 %) they can not be

considered as distinctive alleles. Based on different population genetic statistics (pairwise F_{ST} , PCoA, DAPC, cluster analysis), the Pannonian bees that met the breed standard showed a clear separation from the other subspecies available in Hungary. In contrast, Pannonian bees with morphological disorders showed a high genetic similarity to Pannonian bees that met the breed standard, although there was found a low degree of genetic difference between the two groups. Some genetic similarity could be detected between the morphologically defective and the Carniolan bees, while the Pannonian bees that met the breed standard showed a greater genetic distance from the Carniolan bee. This may be due to the combined effects of natural (adaptation to the environment) and artificial selection (beekeeping purposes, phenotypical selection).

The SNP analyses were performed on a carefully selected and relevant sample collection, taking into account the results of morphological breed classification and supported by population genetic analyses. The results obtained from the SNP analysis confirmed that the group of other subspecies found in our country showed greater genetic diversity and relatively high genetic divergence from the Pannonian bees. There was an overlap between the Pannonian bees that met the breed standard and the individuals with morphological disorders, but the Pannonian bees that met the breed standard clustered together much more than it was detected by the microsatellite markers. 100 SNPs were detected which could be used to identify the Pannonian bee and/or to find bees with possible foreign genetic material. Of the variants, 31 were specific to Pannonian bees that met the breed standard, while 69 SNPs were identified in morphologically defective individuals and in other subspecies found in our country, with allele frequencies above 70 %. It should be noted that the results can only be used in practice after appropriate validation and depending on this, a panel of SNPs can be established for the identification and/or differentiation of the Pannonian bees.

The study provides valuable information for gene conservation strategies of honey bees, highlighting the importance for careful management of genetic resources to preserve the integrity and purity of the breeds. These results can be used to contribute to the improvement of beekeeping practices and to support sustainable breeding programmes.

10. MELLÉKLETEK

M1. Irodalmi hivatkozás

- 188/2019. (VII. 30.) Kormányrendelet az állattenyésztésről. <https://njt.hu/jogszabaly/2019-188-20-22> Lekérdezés időpontja: 2025.07.10.
1995. évi LXXXI. törvény a Biológiai Sokféleség Egyezmény. Wolters Kluwer, <https://net.jogtar.hu/jogszabaly?docid=99500081.tv> Lekérdezés időpontja: 2025.05.10.
- Adam Brother (1950): Beekeeping at Buckfast Abbey, Bee World, 31 (12): 89-91. DOI: <http://doi.org/10.1080/0005772X.1950.11094655>
- Adam Brother (1954): In Search of the Best Strains of Bee: Second Journey, Bee World, 35 (12): 233-245, DOI: <http://doi.org/10.1080/0005772X.1954.11094853>
- Adam Brother (1964): In Search of the Best Strains of Bee: Concluding Journeys, Bee World, 45 (2): 70-83. DOI: <http://doi.org/10.1080/0005772X.1964.11097047>
- Adam Brother (1983): In search of the best strains of bees. Northern Bee Books, Peacock Press, 208 p.
- Adams J., Rothman E.D., Kerr W.E., Paulino Z.L. (1977): Estimation of the Number of Sex Alleles and Queen Matings from Diploid Male Frequencies in a Population of *Apis mellifera*. Genetics, 86 (3): 583–596. DOI: <https://doi.org/10.1093/genetics/86.3.583>
- Agarwal, M., Shrivastava, N., & Padh, H. (2008): Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. Plant Cell Reports, 27 (4): 617–631. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00299-008-0507-z>
- Akác J. (1980): Méhünk fajtavizsgálata. Méhészet, 28 (7): 123.
- Akác J. (1982): Méhcsaládok fajtabélyegek és a napraforgó-mézhozam. Méhészet, 30 (3): 45.
- Alburaki M., Moulin S., Legout H., Alburaki A., Garnery L. (2011): Mitochondrial structure of Eastern honeybee populations from Syria, Lebanon and Iraq. Apidologie, 42 (5): 628–641. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13592-011-0062-4>
- Alburaki M., Bertrand B., Legout H., Moulin S., Alburaki A., Sheppard W., Garnery L. (2013): A Fifth Major Genetic Group among Honeybees Revealed in Syria. BMC Genetics, 14: 117. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2156-14-117>
- Alburaki M., Madella S., Lopez J., Bouga M., Chen Y., vanEngelsdorp D. (2023): Honey bee populations of the USA display restrictions in their mtDNA haplotype diversity. Frontiers in Genetics, 13: 1092121. DOI: <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.1092121>
- Alcay S., Toker M.B., Gokce E., Ustuner B., Onder N.T., Sagirkaya H. (2015): Successful ram semen cryopreservation with lyophilized egg yolk-based extender. Cryobiology 71: 329–333. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2015.08.008>
- Alcay S., Cakmak S., Cakmak I., Mulkpinara E., Gokcec E., Ustunera B., Sen H., Nura Z. (2019): Successful cryopreservation of honey bee drone spermatozoa with royal jelly supplemented extenders. 87: 28-31. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2019.03.005>

- Alcay S., Cakmak S., Cakmak I., Aktar A., Ustuner B., Yilmaz M., Duman M., Ozkan H., Akkaya Y., Sagirkaya H., Nur Z. (2022): Honey bee drone (*Apis mellifera*) sperm cryopreservation with rainbow trout seminal plasma supplemented extenders. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 73 (1): 3751–3756. DOI: <https://doi.org/10.12681/jhvms.25651>
- Al-Lawati H., Kamp G., Bienefeld K. (2009): Characteristics of the spermathecal contents of old and young honeybee queens. *Journal of Insect Physiology*, 55 (2): 117–122. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2008.10.010>
- Allsopp M. (2004): Cape honeybee (*Apis mellifera capensis* Eshscholtz) and varroa mite (*Varroa destructor* Anderson & Trueman) threats to honeybees and beekeeping in Africa. *International Journal of Tropical Insect Science*, 24 (1): 87–94. DOI: <https://doi.org/10.1079/ijt20041>
- Altschul F.S., Gish W., Miller W., Myers E.W., Lipman D.J. (1990): Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215 (3): 403–410. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
- Ambrózy B. (1914): A méh. Országos Magyar Méhészeti Egyesület, Budapest, 822 p.
- Baer B., Eubel H., Taylor N.L., O'Toole N., Millar A.H. (2009a): Insights into female sperm storage from the spermathecal fluid proteome of the honeybee *Apis mellifera*. *Genome Biology*, 10 (6): R67 DOI: <https://doi.org/10.1186/gb-2009-10-6-r67>
- Baer B., Heazlewood J.L., Taylor N.L., Eubel H. & Millar A.H. (2009b): The seminal fluid proteome of the honeybee *Apis mellifera*. *Proteomics*, 9: 2085–2097. DOI: <https://doi.org/10.1002/pmic.200800708>
- Bailey L. (1964): The “Isle of Wight Disease”: The Origin and Significance of the Myth. *Bee World*, 45 (1): 32–37. DOI: <https://doi.org/10.1080/0005772x.1964.11097032>
- Bakk F. (1955): A magyarországi mézelő-méh fajtavizsgálata. *Méhészet*, 3 (12): 223-227.
- Balázs R., Edviné Meleg E., Hidas A., Rácz T., Zajác E. & Pálinkás-Bodzsár N. (2023): Pannonméh-állományok genetikai diverzitásának vizsgálata molekuláris markerekkel. *Méhészet*, 71 (7): 22-24.
- Bandelt H.J., Forster P., Rohl A. (1999): Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16 (1): 37–48. DOI: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026036>
- Barbattini R., Aldini R.N. (2010): Le "false api" nell'arte, nell'editoria, nella pubblicità (I parte). *Apitalia*. 10: 35-39. https://www.academia.edu/89137767/Le_false_api_nellarte_nelleditor%C3%ACa_nella_pubblicit%C3%A0_I_parte Lekérdezés időpontja: 2025.05.15.
- Bardakci F. (2001): "Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers," *Turkish Journal of Biology*, 25 (2): 185-196. <https://journals.tubitak.gov.tr/biology/vol25/iss2/10> Lekérdezés időpontja: 2025.04.19.
- Bernardini F., Tuniz C., Coppa A., Mancini L., Dreossi D., Eichert D., Turco G., Biasotto M., Terrasi F., De Cesare N., Hua Q., Levchenko V. (2012): Beeswax as dental filling on a

- neolithic human tooth. PLoS One, 7 (9): e44904. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044904>
- Beuzen N.D., Stear M.J., Chang K.C. (2000): Molecular markers and their use in animal breeding. The Veterinary Journal, 160 (1): 42–52. DOI: <https://doi.org/10.1053/tvjl.2000.0468>
- Bienefeld K. (2016). Breeding success or genetic diversity in honey bees? Bee World, 93 (2): 40–44. DOI: <https://doi.org/10.1080/0005772X.2016.1227547>
- Bieńkowska M., Węgrzynowicz P., Panasiuk B., Gerula D., Loc K. (2008): Influence of the age of honey bee queens and dose of semen on condition of instrumentally inseminated queens kept in cages with 25 worker bees in bee colonies. Journal of Apicultural Science, 52 (2): 23-33. <https://www.researchgate.net/publication/258841458> Lekérdezés időpontja: 2024.12.01.
- Blacket M.J., Robin C., Good R.T., Lee S.F., Miller A.D. (2012): Universal primers for fluorescent labelling of PCR fragments-an efficient and cost-effective approach to genotyping by fluorescence. Molecular Ecology Resources, 12: 456–463. DOI: <https://www.doi.org/10.1111/j.1755-0998.2011.03104.x>
- Bloch G., Francoy T.M., Wachtel I., Panitz-Cohen N., Fuchs S., Mazar A. (2010): Industrial apiculture in the Jordan valley during Biblical times with Anatolian honeybees. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 107 (25): 11240-11244. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1003265107>.
- Blum M.S., Bumgarner J.E. & Taber S. (1967): Composition and possible significance of fatty acids in the lipid classes in honey bee semen. Journal of Insect Physiology, 13: 1301–1308. DOI: [https://doi.org/10.1016/0022-1910\(67\)90132-1](https://doi.org/10.1016/0022-1910(67)90132-1)
- Borbély G. (1988): Három anya egy méhcsaládban. Méhészet 36 (1): 14.
- Botstein D., White R.L., Skolnick M., Davis R.W. (1980): Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. American Journal of Human Genetics, 32: 314-331. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC1686077/> Lekérdezés időpontja: 2025.04.19.
- Bouga M., Kiliass G., Harizanis P.C., Papasotiropoulos V. Alahiotis S. (2005a): Allozyme Variability and Phylogenetic Relationships in Honey Bee (*Hymenoptera: Apidae: Apis mellifera*) Populations From Greece and Cyprus. Biochemical Genetics, 43 (9-10): 471–483. DOI: <http://doi.org/10.1007/s10528-005-8163-2>
- Bouga M., Harizanis P.C., Kiliass G., Alahiotis S. (2005b): 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 (3): 335–344. DOI: <http://doi.org/10.1051/apido:2005021>
- Bross P. (szerk.)(2023): Méhészetek, méhcsaládok száma 2022. Méhészet, 71 (5): 27.
- Brown M.J.F., Paxton R.J. (2009): The conservation of bees: a global perspective. Apidologie 40: 410–416. DOI: <https://doi.org/10.1051/apido/2009019>
- Burley L.M., Fell R.D., Saacke R.G. (2008): Survival of Honey Bee (*Hymenoptera: Apidae*) Spermatozoa Incubated at Room Temperature from Drones Exposed to Miticides. Journal

- of Economic Entomology, 101 (4): 1081–1087. DOI: [https://doi.org/10.1603/0022-0493\(2008\)101\[1081:sohbha\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1603/0022-0493(2008)101[1081:sohbha]2.0.co;2)
- Cameron S.L. (2014): Insect Mitochondrial Genomics: Implications for Evolution and Phylogeny. Annual Review of Entomology, 59 (1): 95–117. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011613-162007>
- Cann R.L., Brown W.M., Wilson A.C. (1984): Polymorphic sites and the mechanism of evolution in human mitochondrial. Genetics, 106 (3): 479–499. DOI: <https://doi.org/10.1093/genetics/106.3.479>
- Chandler P.J. (2014): Méhészkedés természetesen. Rónaőrző Természetvédelmi Egyesület, Debrecen, 130 p. <https://mek.oszk.hu/14400/14401/14401.pdf> Lekérdezés időpontja: 2024.11.18.
- Chatterjee S., Gagnon C. (2001): Production of reactive oxygen species by spermatozoa undergoing cooling, freezing, and thawing. Molecular Reproduction and Development 59: 451–458. DOI: <https://doi.org/10.1002/mrd.1052>
- Chaud-Netto J. (1975): Sex determination in Bees. 11. Additivity of maleness genes in *Apis mellifera*. Genetics, 79: 213–217. DOI: <https://doi.org/10.1093/genetics/79.2.213>
- Chen C., Liu Z., Pan Q., Chen X., Wang H., Guo H., Liu S., Lu H., Tian S., Li R., Shi W. (2016): Genomic Analyses Reveal Demographic History and Temperate Adaptation of the Newly Discovered Honey Bee Subspecies *Apis mellifera sinisxinyuan* n. ssp. Molecular Biology and Evolution, 33 (5): 1337–1348. DOI: <https://doi.org/10.1093/molbev/msw017>
- Cherevatov O.V., Panchuk I.I., Kerek S.S., Volkovet R.A. (2019): Molecular Diversity of the CoI–CoII Spacer Region in the Mitochondrial Genome and the Origin of the Carpathian Bee. Cytology and Genetics, 53: 276–281. DOI: <https://doi.org/10.3103/S0095452719040030>
- Ching A.D.A., Caldwell K.S., Jung M., Dolan M., Smith O.S., Tingey S., Morgante M., Rafalski A. (2002): SNP frequency, haplotype structure and linkage disequilibrium in elite maize inbred lines. BMC Genetics, 3: 19. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2156-3-19>
- Chuda-Mickiewicz B., Prabucki J., Samborski J. (2003): Onset of oviposition in honeybee queens kept in boxes with non-free flying bees. Journal of Apicultural Science, 47 (1): 27–30. https://apiardeal.ro/biblioteca/carti/Straine/EN_-_A_Jurnal_of_Apicultural_Science_vol.47_2003.pdf#page=28 Lekérdezés időpontja: 2025.04.18.
- Collins A.M. (2000): Survival of Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Spermatozoa Stored at Above-Freezing Temperatures. Journal of Economic Entomology 93 (3): 568–571. DOI: <https://doi.org/10.1603/0022-0493-93.3.568>
- Convention on Biological Diversity (2022): A 2022-es év használlata – Pannon méh. <https://www.biodiv.hu/hu/genmegorzes/az-ev-tajfajtaja-ev-haszonallata/a-2022-es-ev-haszonallata-pannon-meh> Lekérdezés időpontja: 2024.11.22.
- Corbet S. (2001): Native or Exotic? Double or Single? Evaluating Plants for Pollinator-friendly Gardens. Annals of Botany, 87 (2): 219–232. DOI: <https://doi.org/10.1006/anbo.2000.1322>

- Coroian C.O., Muñoz I., Schlüns E.A., Paniti-Teleky O.R., Erler S., Furdui E.M., Mărghitaș L.A., Dezmirean S.S., Schlüns H., De la Rúa P. Moritz R.F.A. (2014): Climate rather than geography separates two European honeybee subspecies. *Molecular Ecology*, 23: 2353–2361. DOI: <https://doi.org/10.1111/mec.12731>.
- Cridland J.M., Tsutsui N.D., Ramírez S.R. (2017): The complex demographic history and evolutionary origin of the Western honey bee, *Apis mellifera*. *Genome Biology and Evolution*, 9 (2): 457–472. DOI: <https://doi.org/10.1093/gbe/evx009>
- Crozier R.H., Crozier Y.C. (1993): The mitochondrial genome of the honeybee *Apis mellifera*: complete sequence and genome organization., *Genetics*, 133 (1): 97–117. DOI: <https://doi.org/10.1093/genetics/133.1.97>
- De la Rúa P., Serrano J., Galián J. (1998): Mitochondrial DNA variability in the Canary Islands honeybees (*Apis mellifera* L.). *Molecular Ecology*, 7 (11): 1543–1547. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.1998.00468.x>
- De la Rúa P., Jaffé R., Dall’Olio R., Munoz I., Serrano J. (2009): Biodiversity, conservation and current threats to European honeybees. *Apidologie*, 40: 263–284. DOI: <https://doi.org/10.1051/apido/2009027>
- Dogantzis K.A., Tiwari T., Conflitti I.M., Dey A., Patch H.M., Muli E.M., Garnery L., Whitfield C.W., Stolle E., Alqarni A.S., Allsopp M.H., Zayed A. (2021): Thrice out of Asia and the adaptive radiation of the western honey bee. *Science Advances*, 7 (49): eabj2151. DOI: <https://doi.org/10.1126/sciadv.abj2151>
- 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. DOI: <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. DOI: <https://doi.org/10.1093/genetics/140.2.679>
- Evanno G., Regnaut S., Goudet J. (2005): Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14 (8): 2611–2620. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x>
- FAO (1961-2023): Crops and livestock products, <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> Lekérdezés időpontja: 2025.06.01.
- FAO (2009): Crops and livestock products, <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> Lekérdezés időpontja: 2025.06.01.
- FAO (2017): Crops and livestock products, <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> Lekérdezés időpontja: 2025.06.01.
- FAO (2018): Global Survey of Honeybees and other Pollinators. 2018., <http://www.fao.org/3/CA0103EN/ca0103en.pdf> Lekérdezés időpontja: 2025.06.01.
- FAO (2020): Crops and livestock products, <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> Lekérdezés időpontja: 2025.06.01.

- FAO (2023): Crops and livestock products, <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> Lekérdezés időpontja: 2025.06.01.
- Farkas I., Molnár J. (1988): A mézelő méh fajtabélyegei. Méhészet, 36 (11): 12.
- Faugere E., Dussy D. (2023): Creating a Better Bee: Sociohistorical Approach of the Buckfast bees'. <https://hal.inrae.fr/hal-04164785v1> Lekérdezés időpontja: 2025.05.28.
- Franck P., Garnery L., Solignac M., Cornuet J.M. (1998): The origin of West European subspecies of honeybees (*Apis mellifera*): new insights from microsatellite and mitochondrial data. Evolution, 52 (4): 1119–1134. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1998.tb01839.x>
- Franck P., Garnery L., Solignac M., Cornuet J.M. (2000): Molecular confirmation of a fourth lineage in honeybees from the Near East. Apidologie, 31 (2): 167–180. DOI: <https://doi.org/10.1051/apido:2000114>
- Franck P., Garnery L., Loiseau A., Oldroyd B.P., Hepburn H.R., Solignac M., Cornuet J.M. (2001): Genetic diversity of the honeybee in Africa: Microsatellite and mitochondrial data. Heredity, 86: 420-430. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2540.2001.00842.x>
- Franck P., Solignac M., Vautrin D., Cornuet J.M., Koeniger G., Koeniger N. (2002): Sperm competition and last-male precedence in the honeybee. Animal Behaviour, 64 (3): 503–509. DOI: <https://doi.org/10.1006/anbe.2002.3078>
- Fu Y.X. (1997): Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. Genetics, 147 (2): 915–925. DOI: <https://doi.org/10.1093/genetics/147.2.915>
- Garnery L., Cornuet J.M., Solignac M. (1992): Evolutionary history of the honey bee *Apis mellifera* inferred from mitochondrial DNA analysis. Molecular Ecology, 1 (3): 145–154. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-294x.1992.tb00170.x>
- Garnery L., Mosshine E.H., Oldroyd B.P., Cornuet J.M. (1995): Mitochondrial DNA variation in Moroccan and Spanish honey bee populations. Molecular Ecology, 4 (4): 465–472. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-294x.1995.tb00240.x>
- Garnery L., Franck P., Baudry E., Vautrin D., Cornuet J.M., Solignac M. (1998): Genetic biodiversity of the west European honeybee (*Apis mellifera mellifera* and *Apis mellifera iberica*) II. Microsatellite DNA. Genetics Selection Evolution, 30 (1): 49-74. DOI: <https://doi.org/10.1186/1297-9686-30-S1-S31>
- Gazsó I. (2024): Méhanyak mesterséges termékenyítése. Méhészet, 72 (112): 73. szám 22-24.
- Gerula D., Bieńkowska M., Panasiuk B. (2011): Instrumental insemination of honey bee queens during flight activity predisposition period 1. Onset of oviposition. Journal of Apicultural Science, 55 (2): 53-66. <https://www.scopus.com/pages/publications/84855866795> Lekérdezés időpontja: 2025.03.01.
- Gerula D., Panasiuk B., Węgrzynowicz P., Bieńkowska M. (2012): Instrumental Insemination of Honey Bee Queens During Flight Activity Predisposition Period 2. Number of Spermatozoa in Spermatheca. Journal of Apicultural Science, 56 (1): 159-167. DOI: <https://doi.org/10.2478/v10289-012-0016-8>

- Giannini T.C., Maia-Silva C., Acosta A.L., Jaffé R., Carvalho A.T., Martins C.F., Fernando C.V., Zanella F.C.V., Carvalho C.A.L., Hrnčíř M., Saraiva A.M., Siqueira J.O., Imperatriz-Fonseca V.L. (2017). Protecting a managed bee pollinator against climate change: strategies for an area with extreme climatic conditions and socioeconomic vulnerability. *Apidologie*, 48 (6): 784–794. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13592-017-0523-5>
- Gmel A.I., Guichard M., Dainat B., Williams G.R., Eynard S., Vignal A., Servin B., the Beestrong Consortium, Neuditschko M. (2023): Identification of runs of homozygosity in Western honeybees (*Apis mellifera*) using whole-genome sequencing data. *Ecology and Evolution*, 13: e9723. DOI: <https://doi.org/10.1002/ece3.9723>
- Goblirsch M. (2018): Nosema ceranae disease of the honey bee (*Apis mellifera*). *Apidologie*, 49 (1): 131–150. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13592-017-0535-1>
- Greaves D.R., Patient R.K. (1985): (AT)_n is an interspersed repeat in the *Xenopus* genome. *The EMBO Journal*, 4 (10): 2617–2626. DOI: <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1985.tb03979.x>
- Grodzicker T., Williams J., Sharp P., Sambrook J (1974): Physical mapping of temperaturesensitive mutations of adenoviruses. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 39: 439–446. DOI: <https://doi.org/10.1101/sqb.1974.039.01.056>
- Gubicza A. (1982a): A Magyarországon elterjedt háziméhek szárnyainak vizsgálata. *Méhészet* 30 (8): 164.
- Gubicza A. (1982b): Magyarországon elterjedt háziméhek szárnyainak vizsgálata. *Méhészet* 30 (9): 184.
- Guichard M., Dainat B., Eynard S., Vignal A., Servin B., Beestrong Consortium & Neuditschko M. (2021): Identification of quantitative trait loci associated with calmness and gentleness in honey bees using whole-genome sequences. *Animal Genetics*, 52 (4): 472–481. DOI: <https://doi.org/10.1111/age.13070>
- Haddad N. J. (2015): Mitochondrial genome of the Levant Region honeybee, *Apis mellifera syriaca* (Hymenoptera: Apidae). *Mitochondrial DNA Part A*, 27 (6): 4067–4068. DOI: <https://doi.org/10.3109/19401736.2014.1003846>
- Harwood G.P., Dolezal A.G. (2020): Pesticide-Virus Interactions in Honey Bees: Challenges and Opportunities for Understanding Drivers of Bee Declines. *Viruses*, 12: 566. DOI: <https://doi.org/10.3390/v12050566>
- Heidinger I.M.M., Meixner M.D., Berg S., Büchler R., Buchler R. (2014): Observation of the Mating Behavior of Honey Bee (*Apis mellifera* L.) Queens Using Radio-Frequency Identification (RFID): Factors Influencing the Duration and Frequency of Nuptial Flights. *Insects*, 5: 513–527. DOI: <https://doi.org/10.3390/insects5030513>
- 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. DOI: <https://doi.org/10.1111/eva.12623>

- Higgins D.G., Sharp P.M. (1988): Clustal: A package for performing multiple sequence alignment on a microcomputer. *Gene*, 73 (1): 237–244. DOI: [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(88\)90330-7](https://doi.org/10.1016/0378-1119(88)90330-7)
- Hopkins B.K., Herr C. (2010): Factors affecting the successful cryopreservation of honey bee (*Apis mellifera*) spermatozoa. *Apidologie*, 41 (5): 548–556. DOI: <https://doi.org/10.1051/apido/20010006>
- Hopkins B.K., Herr C., Sheppard W.S. (2012): Sequential generations of honey bee (*Apis mellifera*) queens produced using cryopreserved semen. *Reproduction, Fertility and Development*, 24 (8): 1079. DOI: <https://doi.org/10.1071/rd11088>
- Hunt G., Page R. (1992): Patterns of inheritance with RAPD molecular markers reveal novel types of polymorphism in the honey bee. *Theoretical and Applied Genetics*, 85 (1): 15–20. DOI: <https://doi.org/10.1007/bf00223839>
- Hunt G.J., Page R.E.Jr. (1994): Linkage analysis of sex determination in the honey bee (*Apis mellifera*). *Molecular Genetics and Genomics*. 244: 512–518. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00583902>
- Hunt G.J., Page R.E.Jr., Fondrk M.K., Dullum C.J. (1995): Major quantitative trait loci affecting honey bee foraging behavior. *Genetics*, 141: 1537–1545. DOI: <https://doi.org/10.1093/genetics/141.4.1537>
- Hurtado M.A., Badenes M.L., Ll  cer G., Westman A., Beck E., Abbott G.A. (2001): Contribution to apricot genetic analysis with RFLP, RAPD and AFLP markers. *Acta Horticulturae*, 546: 417–420. DOI: <https://doi.org/10.17660/actahortic.2001.546.54>
- Hutchison C.A., Newbold J.E., Potter S.S., Edgell M.H. (1974): Maternal inheritance of mammalian mitochondrial DNA. *Nature*, 251 (5475): 536–538. DOI: <https://doi.org/10.1038/251536a0>
- Ilyasov R.A., Poskryakov A.V., Petukhov A.V., Nikolenko A.G. (2016): Molecular genetic analysis of five extant reserves of black honeybee *Apis mellifera mellifera* in the Urals and the Volga region. *Russian Journal of Genetics*, 52: 828–839. DOI: <https://doi.org/10.1134/s1022795416060053>
- Ilyasov R.A., Nikolenko A., Tuktarov V., Goto K., Takahashi J.I., Wook Kwon H. (2019): Comparative Analysis of Mitochondrial Genomes of the Honey Bee Subspecies *A. m. caucasica* and *A. m. carpathica* and Refinement of Their Evolutionary Lineages. *Journal of Apicultural Research*, 58 (4): 567–579. DOI: <https://doi.org/10.1080/00218839.2019.1622320>
- Ilyasov R.A., Lee M., Takahashi J., Wook Kwon H., Nikolenko A. G. (2020): A revision of subspecies structure of western honey bee *Apis mellifera*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27 (12): 3615–3621. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.08.001>
- Jensen A.B., Pedersen B.V. (2005): Honeybee Conservation: a case story from L  s   island, Denmark, in: Lodesani M., Costa C. (Eds.): *Beekeeping and conserving biodiversity of honeybee. Sustainable bee breeding. Theoretical and practical guide*. Northern Bee Books, Hebden Bridge, 142–164 p.
- Jensen A.B., Palmer K.A., Boomsma J.J., Pedersen B.V. (2005a): Varying degrees of *Apis mellifera ligustica* introgression in protected populations of the black honeybee, *Apis*

- mellifera mellifera*, in northwest Europe. *Molecular Ecology*, 14 (1): 93–106. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-294x.2004.02399.x>
- Jensen A.B., Palmer K.A., Chaline N., Raine N.E., Tofilski A., Martin S.J., Pedersen B.V., Boomsma J.J., Ratnieks F.L.W. (2005b): Quantifying honey bee mating range and isolation in semi-isolated valleys by DNA microsatellite paternity analysis. *Conservation Genetics*, 6: 527–537. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10592-005-9007-7>
- Jombart T. (2008): Adegnet: A R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics*, 24 (11): 1403–1405. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn129>
- Kaftanoglu O., Peng Y.S. (1984): Preservation of honeybee spermatozoa in liquid nitrogen. *Journal of Apiculture Research*, 23: 157-163. DOI: <https://doi.org/10.1080/00218839.1984.11100625>
- Kairo G., Provost B., Tchamitchian S., Ben Abdelkader F., Bonnet M., Cousin M., Sénéchal J., Benet P., Kretzschmar A., Belzunces L.P., Brunet J.-L. (2016): Drone exposure to the systemic insecticide Fipronil indirectly impairs queen reproductive potential. *Scientific Reports*, 6: 31904. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep31904>
- Khan A.K. (2021): Genetic diversity and phylogenetic relationship among the western and Asian honey bees based on two mitochondrial gene segments (COI and ND5). *Saudi Journal of Biological Sciences*. 28 (12): 6853-6860. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.07.062>
- Kilaso M., Remnant E.J., Chapman N.C., Oldroyd B.P., Chanchao C. (2016): DNA methylation of Kr-h1 is involved in regulating ovary activation in worker honeybees (*Apis mellifera*). *Insectes Sociaux*, 64 (1): 87-94. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00040-016-0518-7>
- Kiss G.B., Csanadi G., Kalman K., Kalo P., Okresz L. (1993): Construction of a basic linkage map for alfalfa using RFLP, RAPD, isozyme and morphological markers. *Molecular and General Genetics MGG*, 238: 129–137. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00279539>
- Klein A.M., Vaissie're B.E., Cane J.H., Steffan-Dewenter I., Cunningham S.A., Kremen C., Tscharntke T. (2007): Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society B*. 274 (1608): 303–313. DOI: <https://doi.org/10.1098/rspb.2006.3721>
- Kocher S.D., Tarry D.R., Grozinger C.M. (2010): The effects of mating and instrumental insemination on queen honey bee flight behaviour and gene expression. *Insect Molecular Biology*, 19 (2): 153–162. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2583.2009.00965.x>
- Kopelman N.M., Mayzel J., Jakobsson M., Rosenberg N.A., Mayrose I. (2015): Clumpak: A program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K. *Molecular Ecology Resources*, 15 (5): 1179–1191. DOI: <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12387>
- Kryger P., Kryger U., Moritz R.F.A. (2000): Genotypical Variability for the Tasks of Water Collecting and Scenting in a Honey Bee Colony. *Ethology*, 106 (9): 769–779. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1439-0310.2000.00571.x>
- Kryger P., Moritz R.F.A. (1997): Lack of kin recognition in swarming honeybees (*Apis mellifera*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 40: 271–276. DOI: <https://doi.org/10.1007/s002650050342>

- Kwok P.Y., Chen X. (2003): Detection of Single Nucleotide Polymorphisms. *Current Issues in Molecular Biology*, 5 (2): 43-60. DOI: <https://doi.org/10.21775/cimb.005.043>
- Landegren U., Nilsson M., Kwok P.-Y. (1998): Reading Bits of Genetic Information: Methods for Single-Nucleotide Polymorphism Analysis. *Genome Research*, 8 (8): 769–776. DOI: <https://doi.org/10.1101/gr.8.8.769>
- Latorre A., Moya A., Ayala F.J. (1986): Evolution of mitochondrial DNA in *Drosophila subobscura*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 83 (22): 8649-8653. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.83.22.8649>
- Lechner S., Ferretti L., Schöning C., Kinuthia W., Willemsen D., Hasselmann, M. (2013). Nucleotide Variability at Its Limit? Insights into the Number and Evolutionary Dynamics of the Sex-Determining Specificities of the Honey Bee *Apis mellifera*. *Molecular Biology and Evolution*, 3 (2): 272–287. DOI: <https://doi.org/10.1093/molbev/mst207>
- Lensky Y., Demter M. (1985): Mating flights of the queen honeybee (*Apis mellifera*) in a subtropical climate. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 81 (2): 229–241. DOI: [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(85\)90127-6](https://doi.org/10.1016/0300-9629(85)90127-6)
- Lipshutz R.J., Fodor S.P.A., Gingeras T.R., Lockhart D.J. (1999): High density synthetic oligonucleotide arrays. *Nature Genetics*, 21 (1): 20–24. DOI: <https://doi.org/10.1038/4447>
- Litt M., Luty J.A. (1989): A hypervariable microsatellite revealed by in-vitro amplification of dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *American Journal of Human Genetics*, 44 (3): 397-401. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2563634/> Lekérdezés időpontja: 2025.04.10.
- Low Y.L., Wedrén S., Liu J. (2006): High-throughput genomic technology in research and clinical management of breast cancer. *Evolving landscape of genetic epidemiological studies. Breast Cancer Research*, 8: 209. DOI: <https://doi.org/10.1186/bcr1511>
- Ludányi I. (1997): A himalájai méh és az *Apis mellifera* alfajai. *Méhészet*, 45 (1): 10-11.
- Lukic B., Raguz N., Kovačić M., Curik I., Obšteter J., Prešern, Bubnič J., Lužaić R., Pihler I., Mirjanić G., Pietropaoli M., Puškadija Z. (2024): Genomic diversity and population structure of Carniolan honey bee in its native habitat. *BMC Genomics* 25: 849. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12864-024-10750-z>
- Lynch M., Milligan B.G. (1994): Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Molecular Ecology*, 3 (2): 91–99. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-294x.1994.tb00109.x>
- Mackensen O. (1951): Viability and sex determination in the honey bee. *Genetics*, 36 (1): 500-509. DOI: <https://doi.org/10.1093/genetics/36.5.500>
- Magnus R.M., Tripodi A.D., Szalanski A.L. (2014): Mitochondrial DNA Diversity of Honey Bees (*Apis mellifera*) from Unmanaged Colonies and Swarms in the United States. *Biochemical Genetics*, 52: 245–257. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10528-014-9644-y>
- Magyar Méhtenyésztők Országos Egyesülete (2019): Pannon méh teljesítményvizsgálati kódex 2019. <https://mmoe.hu/download/pannon-meh-teljesitmenyvizsgalati-kodex-2019/> Lekérdezés időpontja: 2023.01.18.

- Mărghitaş L.A., Coroian C., Dezmirean D., Stan L., Furdui E. (2010): Genetic Diversity of Honeybees from Moldova (Romania) Based on mtDNA Analysis. *Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies*, 67 (1-2): 396-402. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/pdf/10.5555/20103355750> Lekérdezés időpontja: 2024.11.01.
- Maul V., Bienefeld K., Van Praagh J., Dustmann J., Staemmler G., Mautz D. (1998): Einfluss von Buckfast und Carnica auf Verhaltenseigenschaften der Landbiene. *Imker Freund*, 3: 12-15. <https://hal.science/hal-00891542v1> Lekérdezés időpontja: 2023.01.18.
- Mazar A., Namdar D., Panitz-Cohen N., Neumann R., Weiner S. (2008): Iron Age beehives at Tel Rehov in the Jordan valley. *Antiquity*, 82: 629–639. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0003598X00097271>
- Mazar A., Panitz-Cohen N. (2007): It is the land of honey: Beekeeping in Iron Age IIA Tel Rehov—culture, cult and economy. *Near Eastern Archaeology*, 70 (4): 202–219. https://www.academia.edu/2579540/It_Is_the_Land_of_Honey_Beekeeping_in_Iron_Age_IIA_Tel_Rehov_Culture_Cult_and_Economy Lekérdezés időpontja: 2025.01.19.
- Meixner M.D., Leta M.A., Koeniger N., Fuchs S. (2011): The Honey Bees of Ethiopia Represent a New Subspecies of *Apis mellifera*—*Apis mellifera simensis* n. ssp. *Apidologie*, 42: 425–437. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13592-011-0007-y>
- Meixner M.D., Worobik M., Wilde J., Fuchs S., Koeniger N. (2007): *Apis mellifera mellifera* in eastern Europe – morphometric variation and determination of its range limits. *Apidologie*, 38 (2): 191–197. DOI: <https://doi.org/10.1051/apido:2006068>
- Meusel M.S., Moritz R.F.A. (1993): Transfer of Paternal Mitochondrial DNA during Fertilization of Honeybee (*Apis mellifera* L.) Eggs. *Current Genetics*, 24 (6): 539–543. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00351719>
- 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. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani11051311>
- Mishmar D., Ruiz-Pesini E., Brandon M., Wallace D.C. (2004) Mitochondrial DNA-like sequences in the nucleus (NUMTs): insights into our African origins and the mechanism of foreign DNA integration. *Human Mutation*, 23 (2): 125-133. DOI: <https://doi.org/10.1002/humu.10304>
- Mohamed K. (1988): A magyarországi és a jemeni *Apis mellifera* szipókájának összehasonlítása. *Méhészet*, 36 (1): 10.
- Molnár J., Suhayda J., Farkas I. (1984): Méhanyák teljesítménye, a népesség és hőmérséklet összefüggése. *Méhészet*, 32 (8): 6.
- Momeni J., Parejo M., Nielsen R.O., Langa J., Montes I., Papoutsis L., Farajzadeh L., Bendixen C., Căuia E., Charrière J.-D., Coffey M.F., Costa C., Dall’Olio R., De la Rúa P., Drazic M.M., Filipi J., Galea T., Golubovski M., Gregorc A., Grigoryan K., Hatjina F., Ilyasov R., Ivanova E., Janashia I., Kandemir I., Karatasou A., Kekecoglu M., Kezic M., Matray Sz.E., Mifsud D., Moosbeckhofer R., Nikolenko G.A., Papachristoforou A., Petrov P., Pinto M.A., Poskryakov A.V., Sharipov A.Y., Siceanu A., Soysal M.I., Uzunov A.,

- Zammit-Mangion M., Vingborg R., Bouga M., Kryger P., Meixner M.D., Estonba A. (2021): Authoritative subspecies diagnosis tool for European honey bees based on ancestry informative SNPs. *BMC Genomics*, 22: 101. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12864-021-07379-7>
- Moritz C., Dowling T.E., Brown W.M. (1987): Evolution of Animal Mitochondrial DNA: Relevance for Population Biology and Systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18 (1): 269–292. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.es.18.110187.001413>
- Moritz R.F.A. (1983): Homogeneous mixing of honeybee semen by centrifugation. *Journal of Apicultural Research*, 22 (4): 249-255. DOI: <https://doi.org/10.1080/00218839.1983.11100595>
- Moritz R.F.A., Klepsch A. (1985): Estimating heritabilities of worker characters: a new approach using laying workers of the Cape honeybee (*Apis mellifera capensis*). *Apidologie*, 16 (1): 47-56. DOI: <https://doi.org/10.1051/apido:19850105>
- Moškrič A., Marinč A., Ferk P., Leskošek B., Mosbech M.-B., Bunikis I., Pettersson O.V., Soler L., Prešern J. (2022): The Carniolan Honeybee from Slovenia—A Complete and Annotated Mitochondrial Genome with Comparisons to Closely Related *Apis mellifera* Subspecies. *Insects*, 13 (5): 403. DOI: <https://doi.org/10.3390/insects13050403>
- Muñoz I., De la Rúa P. (2021): Wide genetic diversity in Old World honey bees threaten by introgression. *Apidologie*, 5: 200–217. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13592-020-00810-0>
- Muñoz I., Dall'Olio R., Lodesani M., De la Rúa P. (2009): Population genetic structure of coastal Croatian honeybees (*Apis mellifera carnica*). *Apidologie*, 40 (6): 617–626. DOI: <https://doi.org/10.1051/apido/2009041>
- Muñoz I., Henriques D., Johnston J. S., Chávez-Galarza J., Kryger P., Pinto M.A. (2015): Reduced SNP Panels for Genetic Identification and Introgression Analysis in the Dark Honey Bee (*Apis mellifera mellifera*). *PLOS ONE*, 10 (4): e0124365. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124365>
- Neelam K., Brown-Guedira G., Huang L. (2013): Development and validation of a breeder-friendly KASPar marker for wheat leaf rust resistance locus Lr21. *Molecular Breeding*, 31: 233–237. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11032-012-9773-0>
- Noël A., Conte Y.L., Mondet F. (2020): Varroa destructor: how does it harm *Apis mellifera* honey bees and what can be done about it? *Emerging Topics in Life Sciences*. 4: 45–57. DOI: <https://doi.org/10.1042/ETLS20190125>
- Olivo P.D., Van de Walle M.J., Laipis P.J., Hauswirth W.W. (1983): Nucleotide sequence evidence for rapid genotypic shifts in the bovine mitochondrial DNA D-loop. *Nature*, 306 (5941): 400–402. DOI: <https://doi.org/10.1038/306400a0>
- Örösi P.Z. (1934): A magyarországi méhek ormányának hosszúsága. *Debreceni Szemle*, Debrecen, 8 (78), 156 p.
- Örösi P.Z. (1951): Méhek között. *Mezőgazdasági Kiadó*, Budapest, 581 p.
- Özdil F., Yildiz M.A., Hall H.G. (2009): Molecular characterization of Turkish honey bee populations (*Apis mellifera*) inferred from mitochondrial DNA RFLP and sequence results. *Apidologie*, 40 (5): 570–576. DOI: <https://doi.org/10.1051/apido/2009032>

- Panziera D., Requier F., Chantawannakul P., Pirk C.W.W., Blacqui re T. (2022): The Diversity Decline in Wild and Managed Honey Bee Populations Urges for an Integrated Conservation Approach. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 10: 767950. DOI: <https://doi.org/10.3389/fevo.2022.767950>
- Parejo M., Wragg D., Gauthier L., Vignal A., Neumann P., Neuditschko M. (2016): Using Whole-Genome Sequence Information to Foster Conservation Efforts for the European Dark Honey Bee, *Apis mellifera mellifera*. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 4: 140. DOI: <https://doi.org/10.3389/fevo.2016.00140>
- Park S.D.E. (2001): Trypanotolerance in West African Cattle and the Population Genetic Effects of Selection. Doktori disszert ci , Dublin Egyetem, Dublin <https://www.scirp.org/reference/referencespapers?referenceid=749865> Lekérdezés id pontja: 2025.02.10.
- Patenkovi  A., Tanaskovi  M., Eri  P., Eri  K., Mihajlovi  M., Stanisavljevi  L., Davidovi  S. (2022): Urban ecosystem drives genetic diversity in feral honey bee. *Scientific Reports*, 12: 17692. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-21413-y>.
- Peakall R., Smouse P.E. (2006): GENALEX 6: genetic analysis in Excel Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6 (1): 288–295. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x>
- Peakall R., Smouse P.E. (2012): GenAlEx 65: genetic analysis in Excel Population genetic software for teaching and research—an update. *Bioinformatics*, 28: 2537–2539. El rhet s g: [http:// bioinformatics.oxfordjournals.org/content/28/19/2537](http://bioinformatics.oxfordjournals.org/content/28/19/2537), DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460>
- Péntek-Zakar E. (2014): A magyarországi m zel m h-popul ci kban (*Apis Mellifera Carnica Pannonica* Poll.) megjelen  hat r menti fajták kutat sa genetikai  s morfológiai módszerekkel. Doktori disszert ci , Debreceni Egyetem, Debrecen <https://dea.lib.unideb.hu/items/ec40f9b6-bf19-46fb-ab53-622698be7a44> Lekérdezés id pontja: 2022.05.14.
- Péntek-Zakar E., Oleksa A., Borowik T., Kusza S. (2015): Population structure of honey bees in the Carpathian Basin (Hungary) confirms introgression from surrounding subspecies. *Ecology and Evolution*, 5 (23): 5456–5467. DOI: <https://doi.org/10.1002/ece3.1781>
- Pettis J.S., Rice N., Joselow K., vanEngelsdorp D., Chaimanee V. (2016): Colony Failure Linked to Low Sperm Viability in Honey Bee (*Apis mellifera*) Queens and an Exploration of Potential Causative Factors. *PLoS ONE*, 11 (5): e0155833. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155833>
- Pinto M.A., Henriques D., Chávez-Galarza J., Kryger P., Garnery L., van der Zee R., Dahle B., Soland-Reckeweg G., De la R a P., Dall' Olio R., Carreck N.L., Johnston, J.S. (2014): Genetic integrity of the Dark European honey bee (*Apis mellifera mellifera*) from protected populations: a genome-wide assessment using SNPs and mtDNA sequence data. *Journal of Apicultural Research*, 53 (2): 269–278. DOI: <https://doi.org/10.3896/ibra.1.53.2.08>
- Poland V., Eubel H., King M., Solheim C., Harvey M.A. & Baer B. (2011): Stored sperm differs from ejaculated sperm by proteome alterations associated with energy metabolism in the honeybee *Apis mellifera*. *Molecular Genetics Journal*, 20: 2643–2654. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05029.x>

- Potts S.G., Roberts S.P.M., Dean R., Marris G., Brown M.A., Jones R., Neumann P., Settele, J. (2010): Declines of managed honey bees and beekeepers in Europe. *Journal of Apicultural Research*, 49 (1): 15–22. DOI: <https://doi.org/10.3896/ibra.1.49.1.02>
- Pritchard J.K., Stephens M., Donnelly P. (2000): Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155: 945–959. DOI: <https://doi.org/10.1093/genetics/155.2.945>
- Prodělalová J., Moutelíková R., Titěra D. (2019): Multiple Virus Infections in Western Honeybee (*Apis mellifera* L.) Ejaculate Used for Instrumental Insemination. *Viruses*, 11 (4): 306. DOI: <https://doi.org/10.3390/v11040306>
- Purcell S., Neale B., Todd-Brown K., Thomas L., Ferreira M.A.R., Bender D., Maller J., Sklar P., de Bakker P.I.W., Daly M.J., Sham P.C. (2007): PLINK: A Tool Set for Whole-Genome Association and Population-Based Linkage Analyses. *The American Journal of Human Genetics*, 81 (3): 559–575. DOI: <https://doi.org/10.1086/519795>
- Radoslavov G., Hristov P., Shumkova R., Mitkov I., Sirakova D., Bouga M. (2017): A specific genetic marker for the discrimination of native Bulgarian honey bees (*Apis mellifera rodopica*): Duplication of coI gene fragment, *Journal of Apicultural Research*, 56 (3): 196 – 202. DOI: <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1307713>
- Rhodes J.W., Harden S., Spooner-Hart R., Anderson D.L., Wheen G. (2011): Effects of age, season and genetics on semen and sperm production in *Apis mellifera* drones. *Apidologie*, 42 (1): 29–38. DOI: <https://doi.org/10.1051/apido/2010026>
- Richard I., Beckman J.S. (1995) How neutral are synonymous codon mutations? *Nature Genetics*, 10 (3): 259 DOI: <https://doi.org/10.1038/ng0795-259>
- Roberts W.C., Mackensen O. (1951): Breeding improved honey bees. II. Heredity and variation. *American Bee Journal*, 91 (8): 328–330. <https://www.beesource.com/threads/breeding-improved-honey-bees-part-2-heredity-and-variation.365855/> Lekérdezés időpontja: 2024.01.10.
- Rousseau A., Giovenazzo P. (2016): Optimizing Drone Fertility With Spring Nutritional Supplements to Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Colonies. *Journal of Economic Entomology*, 109: 1009–1014. DOI: <https://doi.org/10.1093/jee/tow056>
- Rozas J., Ferrer-Mata A., Sánchez-DelBarrio J.C., Guirao-Rico S., Librado P., Ramos-Onsins S.E., Sánchez-Gracia A. (2017): DnaSP 6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Data Sets. *Molecular Biology and Evolution*, 34 (12): 3299–3302. DOI: <https://doi.org/10.1093/molbev/msx248>
- Royo J.L., Galán, J.J. (2009). Pyrosequencing for SNP Genotyping. *Single Nucleotide Polymorphisms. Methods in Molecular Biology*, 578: 123–133. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-60327-411-1_7
- Ruttner F. (1988): Morphometric Analysis and Classification. In *Biogeography and Taxonomy of Honeybees*. Springer, Berlin/Heidelberg, Germany, 284 p.
- Ruttner F., Koeniger G. (1971): Die Füllung der Spermatheka der Bienenkönigin. *Z. vergl. Physiologie*, 72: 411–422. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00300712>

- Ruttner F., Tassencourt L., Louveau J. (1978): Biometrical-statistical analysis of the geographical variability of *Apis mellifera*. *Apidologie*, 9 (4): 363–381. DOI: <https://doi.org/10.1051/apido:19780408>
- Rüppell O., Pankiw T., Page R.E.Jr. (2004): Pleiotropy, epistasis and new QTL: the genetic architecture of honey bee foraging behavior. *Journal of Heredity*, 95 (6): 481–491. DOI: <https://doi.org/10.1093/jhered/esh072>.
- Sachidanandam R., Weissman D., Schmidt S.C., Kakol J.M., Stein L.D., Marth G., Sherry S., Mullikin J.C., Mortimore B.J., Willey D.L. (2001): A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature*, 409: 928–933. DOI: <https://doi.org/10.1038/35057149>
- Saghai Maroof M.A., Biyashev R.M., Yang G.P., Zhang Q., Allard R.W. (1994): Extraordinarily polymorphic microsatellite DNA in barley: species diversity, chromosomal locations, and population dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91 (12): 5466–5470. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.91.12.5466>
- Saraste M. (1990): Structural features of cytochrome oxidase. *Quarterly Reviews of Biophysics*, 23 (4): 331. DOI: <https://doi.org/10.1017/s0033583500005588>
- Schlötterer C., Tautz, D. (1992): Slippage synthesis of simple sequence DNA. *Nucleic Acids Research*, 20 (2): 211–215. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/20.2.211>
- Schuelke M. (2000): An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. *Nature Biotechnology*, 18 (2): 233–234. DOI: <https://doi.org/10.1038/72708>
- Scott M.P., Haymes K.M., Williams S.M. (1992): Parentage analysis using RAPD PCR. *Nucleic Acids Research*, 20 (20): 5493–5493. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/20.20.5493>
- Semagn K., Babu R., Hearne S., Olsen M. (2014): Single nucleotide polymorphism genotyping using Kompetitive Allele Specific PCR (KASP): overview of the technology and its application in crop improvement. *Molecular Breeding*, 33 (1): 1–14. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11032-013-9917-x>
- Shaibi T., Muñoz I., Dall'Olio R., Lodesani M., De la Rúa P., Moritz R.F.A. (2009): *Apis mellifera* evolutionary lineages in Northern Africa: Libya, where orient meets occident. *Insectes Sociaux*, 56 (3): 293–300. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00040-009-0023-3>
- Sheppard W.S., Meixner M.D. (2003): *Apis mellifera pomonella*, a New Honey Bee Subspecies from Central Asia. *Apidologie*, 34: 367–375. DOI: <https://doi.org/10.1051/apido:2003037>
- Siebold C.T.E.v. (1856): *Wahre Parthenogenesis bei Schmetterlingen und Bienen*. Vero Verlag von Wilhelm Engelmann, Leipzig, 144 p. DOI: <https://doi.org/10.3931/e-rara-119452>
- Sipos T., Rácz T., Drobnyák Á., Zajác E., Bárczi G., Szabó G., Sisa A., Török É., Szabó Zs., Barna J., Végi B. (2021a): Spermatológiai vizsgálatok krajnai méhben (*Apis mellifera carnica*) In: Hajdu T., Korsós Z., Málnási Csizmadia G., Mecsnóber M.: *A Magyar Biológiai Társaság XXXII. Vándorgyűlése, Tápiószéle*, 22 p.
- Sipos T., Drobnyák Á., Rácz T., Zajác E., Török É., Szabó Zs., Barna J., Végi B. (2021b): Ondómélyhűtési protokoll fejlesztése krajnai méh (*Apis mellifera carnica*) génmegőrzése céljából. In: *26. Szaporodásbiológiai Találkozó, Balatonkenese*, 21. p.

- Slater G.P., Smith N.M.A., Harpur B.A. (2021): Prospects in Connecting Genetic Variation to Variation in Fertility in Male Bees. *Genes*, 12: 1251. DOI: <https://doi.org/10.3390/genes12081251>
- Sobrinho B., Briona M., Carracedo A. (2005): SNPs in forensic genetics: a review on SNP typing methodologies. *Forensic Science International*, 154 (2-3): 181–194. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2004.10.020>
- Soland-Reckeweg G., Heckel G., Neumann P., Fluri P., Excoffier L. (2009): Gene flow in admixed populations and implications for the conservation of the Western honeybee, *Apis mellifera*. *Journal of Insect Conservation*, 13 (3): 317–328. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10841-008-9175-0>
- 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: <https://doi.org/10.1046/j.1471-8286.2003.00436.x>
- Southern E.M. (1975): Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *Journal of Molecular Biology*, 98 (3): 503–517. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0022-2836\(75\)80083-0](https://doi.org/10.1016/s0022-2836(75)80083-0)
- Spinola M. (1806): *Insectorum Liguria species novae aut rariores, quas in agro ligustico nuper detexit*. Nabu Press, 194 p. DOI: <https://doi.org/10.5962/bhl.title.65985>
- Spötter A., Gupta P., Nürnberg G., Reinsch N., Bienefeld K. (2012): Development of a 44K SNP assay focussing on the analysis of a varroa-specific defence behaviour in honey bees (*Apis mellifera carnica*). *Molecular Ecology Resources*, 12 (2): 323–332. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2011.03106.x>
- Šťastný M., Gasper J., Bauer M. (2017): Genetic structure of *Apis mellifera carnica* in Slovakia based on microsatellite DNA polymorphism. *Biologia*, 72 (11): 1341–1346. DOI: <https://doi.org/10.1515/biolog-2017-0149>
- Stokstad E. (2007): The Case of the Empty Hives. *Science*, 316 (5827): 970–972. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.316.5827.970>
- Storer C.G., Pascal C.E., Roberts S.B., Templin W.D., Seeb L.W., Seeb J.E. (2012): Rank and Order: Evaluating the Performance of SNPs for Individual Assignment in a Non-Model Organism. *PLoS ONE*, 7 (11): e49018. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0049018>
- Stout J.C., Morales C.L. (2009): Ecological impacts of invasive alien species on bees. *Apidologie*, 40 (3): 388–409. DOI: <https://doi.org/10.1051/apido/2009023>
- Strange J.P., Garnery L., Sheppard W.S. (2008): Morphological and molecular characterization of the Landes honey bee (*Apis mellifera* L.) ecotype for genetic conservation. *Journal of Insect Conservation*, 12: 527–537. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10841-007-9093-6>
- Suazo A. (1998): Differences between African and European honey bees (*Apis mellifera* L.) in random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Journal of Heredity*, 89 (1): 32–36. DOI: <https://doi.org/10.1093/jhered/89.1.32>

- Suazo A., Hall H.G. (1999): Modification of the AFLP Protocol Applied to Honey Bee (*Apis mellifera* L.) DNA, *BioTechniques*, 26 (4): 704-709. DOI: <https://doi.org/10.2144/99264st07>
- Suhayda J. (1980): Teljesítményvizsgálat. *Méhészet*, 28 (5): 86-87.
- Suhayda J. (1986a): Méhtenyésztési kutatások Gödöllőn. *Méhészet*, 34 (3): 10-11.
- Suhayda J. (1986b): A méhcsaládok teljesítményvizsgálata és bírálata. *Méhészet*, 34 (3): 10-11.
- Sunyaev S., Hanke J., Aydin A., Wirkner U., Zastrow I., Reich J., Bork P. (1999): Prediction of nonsynonymous single nucleotide polymorphisms in human disease-associated genes. *Journal of Molecular Medicine*, 77 (11): 754-760. DOI: <https://doi.org/10.1007/s001099900059>
- Sušnik S., Kozmus P., Poklukar J., Meglic V. (2004): Molecular characterisation of indigenous *Apis mellifera carnica* in Slovenia. *Apidologie*, 35: 623-636. DOI: <https://doi.org/10.1051/apido:2004061>
- Szabó F. (2004): Általános állattenyésztés. - Mezőgazda Kiadó, Budapest, 23-25 p.
- 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: 79-82. DOI: <https://doi.org/10.1080/00218839.1987.11100741>
- Szalaiiné Mátray E. (2002): Méh. Mezőgazda Kiadó, Budapest, 69 p.
- Szalanski A., Tripodi A. (2014): Assessing the Utility of a PCR Diagnostics Marker for the Identification of Africanized Honey Bee, *Apis mellifera* L., (*Hymenoptera: Apidae*) in the United States. *Sociobiology*, 61 (2): 234-236. DOI: <https://doi.org/10.13102/sociobiology.v61i2.234-236>
- Szalay I. (szerk.) (2017): Génbanki kutatások régi haszonállataink védelmében. Mezőgazda Lap- és Könyvkiadó, Budapest, 214 p. http://www.geneconservation.hu/sites/default/files/genbanki_kutatasok_haszonallataink_vedelmeben_hagk_2017_small.pdf Lekérdezés időpontja: 2021.01.10.
- Tajima F. (1989): Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123 (3): 585-595. DOI: <https://doi.org/10.1093/genetics/123.3.585>
- Tamura K., Stecher G., Kumar S. (2021): MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38 (7): 3022-3027. DOI: <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
- Tanasković M., Erić P., Patenković A., Erić K., Mihajlović M., Tanasić V., Stanisavljević L., Davidović S. (2021): MtDNA Analysis Indicates Human-Induced Temporal Changes of Serbian Honey Bees Diversity. *Insects*, 12 (9): 767. DOI: <https://doi.org/10.3390/insects12090767>
- Tanasković M., Erić P., Patenković A., Erić K., Mihajlović M., Tanasić V., Kusza S., Oleksa A., Stanisavljević L., Davidović S. (2022): Further Evidence of Population Admixture in the Serbian Honey Bee Population. *Insects*, 13 (2): 180. DOI: <https://doi.org/10.3390/insects13020180>

- Tarpy D.R., Nielsen R., Nielsen D.I. (2004): A scientific note on the revised estimates of effective paternity frequency in *Apis*. *Insectes Sociaux*, 51: 203–204. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00040-004-0734-4>
- Tautz D. (1989): Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Research*, 17 (16): 6463–6471. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/17.16.6463>
- Tautz D., Renz M. (1984): Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. *Nucleic Acids Research*, 12 (10): 4127–4138. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/12.10.4127>
- Taylor M.A., Guzmán Novoa E., Morfin N., Buhr M.M. (2009): Improving viability of cryopreserved honey bee (*Apis mellifera* L.) sperm with selected diluents, cryoprotectants, and semen dilution ratios. *Theriogenology*, 7: 149–159. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.02.012>
- Techer M.A., Clémencet J., Turpin P., Volbert N., Reynaud B., Delatte H. (2015): Genetic characterization of the honeybee (*Apis mellifera*) population of Rodrigues Island, based on microsatellite and mitochondrial DNA. *Apidologie*, 46 (4): 445–454. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13592-014-0335-9>
- The Honeybee Genome Sequencing Consortium (2006): Insights into social insects from the genome of the honeybee *Apis mellifera*. *Nature*, 443: 931–949. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature05260>
- Themudo G.E., Rey-Iglesia A., Tascón L.R., Jensen A.B., da Fonseca R.R., Campos P.F. (2020): Declining genetic diversity of European honeybees along the twentieth century. *Scientific Reports*, 10: 10520. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67370-2>
- Tihelka E., Cai C., Pisani D., Donoghue P.C.J. (2020): Mitochondrial genomes illuminate the evolutionary history of the Western honey bee (*Apis mellifera*). *Scientific Reports*, 10: 14515. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71393-0>
- Török É. (2008): Méhcsaládok genetikai analízise RAPD-PCR eljárással. TDK dolgozat, Gödöllő, 40 p.
- Traynor K.S., Mondet F., de Miranda J.R., Techer M., Kowallik V., Oddie M.A.Y., Chantawannakul P., McAfee A. (2020): *Varroa destructor*: A Complex Parasite, Crippling Honey Bees Worldwide. *Trends in Parasitology*, 36 (7): 592–606. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pt.2020.04.004>
- Tunca R.I. (2009): Determination and Comparison of Genetic Variation in Honey Bee (*Apis Mellifera* L.) Populations of Turkey by Random Amplified Polymorphic DNA and Microsatellite Analyses. Doktori disszertáció, Middle East Technical Egyetem, Törökország, 141 p. <https://open.metu.edu.tr/handle/11511/18512> Lekérdezés időpontja: 2024.12.10.
- Tunca R.I., Kence M. (2011): Genetic diversity of honey bee (*Apis mellifera* L.: Hymenoptera: Apidae) populations in Turkey revealed by RAPD markers. *African Journal of Agricultural Research*, 6 (29): 6217–6225. DOI: <https://doi.org/10.5897/AJAR10.386>

- vanEngelsdorp D., Hayes J., Underwood R.M., Pettis, J.S. (2010): A survey of honey bee colony losses in the United States, fall 2008 to spring 2009. *Journal of Apicultural Research*, 49 (1): 7–14. DOI: <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.49.1.03>
- Vékey Á. (1984a): A méhcsalád genetikája. *Méhészet*, 32 (2): 4.
- Vékey Á. (1984b): Citogenetika. *Méhészet*, 32 (3): 3.
- Vékey Á. (1984c): Az ivar kialakulása. *Méhészet*, 32 (5): 5.
- Viert V., Wegener J., Bienefeld K. (2021): Europe's First Gene Bank for Honey Bees, *Bee World*, 98 (4): 110-114. DOI: <https://doi.org/10.1080/0005772X.2021.1927576>
- Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijans M., Lee T. van de, Hornes M., Hornes M., Friters A., Pot J., Paleman J., Kuiper M., Zabeau M. (1995): AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 23 (21): 4407–4414. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/23.21.4407>
- Weber E. (2012): *Apis mellifera*: the domestication and spread of European honey bees for agriculture in North America. *University of Michigan Undergraduate Research Journal*, 9: 20-23. https://deepblue.lib.umich.edu/bitstream/handle/2027.42/97006/UMURJ-Issue09_2012-EWeber.pdf Lekérdezés időpontja: 2025.01.10.
- Wegener J., Bienefeld K. (2012): Toxicity of cryoprotectants to honey bee semen and queens. *Theriogenology*, 77: 600 – 607. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.08.036>
- Wegener J., May T., Kamp G., Bienefeld K. (2014): A successfull new approach to honeybee semen cryopreservation. *Cryobiology*, 69: 236-242. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2014.07.011>
- Wenz H.M., Robertson J.M., Menchen S., Oaks F., Demorest D.M., Scheibler D., Rosenblum B.B., Wike C., Gilbert D.A., Efcavitch J.W. (1998): High-precision genotyping by denaturing capillary electrophoresis. *Genome Research*, 8 (1): 69–80. DOI: <https://doi.org/10.1101/gr.8.1.69>
- Westerkamp C., Gottsberger G. (2000): Diversity Pays in Crop Pollination. *Crop Science*, 40 (5): 1209. DOI: <https://doi.org/10.2135/cropsci2000.4051209x>
- Wilkinson S., Archibald A.L., Haley C.S., Megens H.-J., Crooijmans R.P.M.A., Groenen M.A.M., Wiener P., Ogden R. (2012): Development of a genetic tool for product regulation in the diverse British pig breed market. *BMC Genomics*, 13: 580. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-580>
- Williams J.G.K., Kubelik A.R., Livak K.J., Rafalski J.A., Tingey S.V. (1990): DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, 18 (22): 6531–6535. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/18.22.6531>
- Wilson A.C., Cann R.L., Carr S.M., George M., Gyllensten U.B., Helm-Bychowski K.M., Higuchi R.G., Palumbi S.R., Prager E.M., Sage R.D. Stoneking M. (1985): Mitochondrial DNA and two perspectives on evolutionary genetics. *Biological Journal of the Linnean Society*, 26 (4): 375–400. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.1985.tb02048.x>

- Winston M.L. (1992): The Biology and Management of Africanized Honey Bees. Annual Review of Entomology, 37 (1): 173–193. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.en.37.010192.001133>
- Woyke J. (1963): What Happens to Diploid Drone Larvae in a Honeybee Colony. Journal of Apicultural Research, 2 (2): 73–75. DOI: <https://doi.org/10.1080/00218839.1963.11100063>
- Woyke J. (1965a): Genetic Proof of the Origin of Drones from Fertilized Eggs of the Honeybee. Journal of Apicultural Research, 4 (1): 7–11. DOI: <https://doi.org/10.1080/00218839.1965.11100095>
- Woyke J. (1965b): Study on the comparative viability of diploid and haploid drone honey bees. Journal of Apicultural Research, 4 (1): 12–16. DOI: <https://doi.org/10.1080/00218839.1965.11100096>
- Woyke J. (1983): Dynamics of entry of spermatozoa into the spermatheca of instrumentally inseminated queen honeybees. Journal of Apicultural Research, 22 (3): 150–154. DOI: <https://doi.org/10.1080/00218839.1983.11100579>
- Woyke J., Jasinski Z. (1976): The influence of age on the results of instrument insemination of honeybee queen. Apidologie, 7 (4): 301–306. DOI: <https://doi.org/10.1051/apido:19760402>
- Wragg D., Marimon M.M., Basso B., Bidanel J.P., Labarthe E., Bouchez O., Le Conte Y., Vignal A. (2016): Whole-genome resequencing of honeybee drones to detect genomic selection in a population managed for royal jelly. Scientific Reports, 6: 27168. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep27168>
- Wu M.-C., Lu T.-H., Lu K.-H. (2017): PCR-RFLP of mitochondrial DNA reveals two origins of *Apis mellifera* in Taiwan. Saudi Journal of Biological Sciences, 24 (5): 1069–1074. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.12.008>
- Yin L., Ji T., Chen G., Peng W. (2011): Genetic characterization of three breeds of high royal jelly producing honeybee (*Apis mellifera ligustica*) in China. African Journal of Agricultural Research, 6 (2): 331–337. DOI: <https://doi.org/10.5897/AJAR10.850>
- Zakar E., Zajác E., Rác T., Oláh J., Jávör A. & Kusza Sz. (2013): A hazai mézelő méh (*Apis mellifera* L.) populációk fajtajelleg vizsgálata. Agrártudományi Közlemények, 51: 59–63. <https://dea.lib.unideb.hu/items/bfad0ff2-0965-46f2-879a-bcc8eadcdedf> Lekérdezés időpontja: 2025.02.11.
- Zayed A. (2009): Bee genetics and conservation. Apidologie, 40: 237–262. DOI: <https://doi.org/10.1051/apido/2009026>
- Zhang D. X., Hewitt G. M. (1997): The long and short of nuclear mitochondrial DNA (Numt) lineages. Trends in Ecology & Evolution, 12 (3): 114. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0169-5347\(97\)84926-9](https://doi.org/10.1016/s0169-5347(97)84926-9)

M2. Az alkalmazott mikroszatellit markerek, pozícióik az egyes kromoszómákon, valamint a PCR és a fragment analízis során alkalmazott jellemzőik

Fragment analízis	Multiplex PCR	Mikroszatellit marker	Kromoszóma	Pozíció (bp)	Allélméret fark szekvenciával (bp)	Fluoreszcens jelölés (WELL-RED)	Tapadási hőmérséklet (°C)	Ciklusszám
FA1	M1	Ap066	3	4,186,880-4,186,980	101-133	D2	60	30
		Ac306	2	7,639,260-7,639,424	175-211			
	M5	Ap218	5	6,946,374-6,946,491	132-149	D4	60	30
		A29	15	14,619-14,756	153-210			
		Ap049	2	8,918,415-8,918,556	140-174	D3	60	30
		Ap033	10	8,690,103-8,690,339	239-275	D3	60	30
FA2	M2	A007	8	2,799,436-2,799,558	123-158	D2	60	30
		A107	7	6,998,252-6,998,427	160-194			
	M3	Ac011	9	410,642-410,766	125-149	D3	60	30
		Ap043	3	868,728-868,902	151-189			
	M6	Ap081	9	2,819,248-2,819,375	147-161	D4	60	30
		Ap055	1	24,902,569-24,902,762	181-227			
		Ap226	1	19,714,963-19,715,197	249-263			
FA3	M7	A(B)24	7	2,236,580-2,236,674	112-124	D3	57	35
		A113	6	6,380,984-6,381,203	216-256			
	M8	A35	1	1,983,189-1,983,288	117-142	D2	57	35
		A88	ismeretlen	-	157-172			
		Ap289	8	7,410,240-7,410,438	193-234			
		Ap307	16	2,748,961-2,749,109	158-166	D4	60	30
		A008	2	4,309,399-4,309,574	182-200	D3	60	30

M3. Az *Apis mellifera* különböző alfajainak mitokondriális DNS elemzéshez felhasznált szekvenciái az NCBI adatbázisból

Génbanki azonosító	<i>Apis mellifera</i> alfajok	Alfajok magyar elnevezései*
AP018403.1	<i>carpatica</i>	
AP018404.1	<i>caucasica</i>	kaukázusi méh
AP018432.1	<i>buckfast</i>	Buckfast-hibrid
CM040891.1	<i>mellifera</i>	sötét európai méh
KJ396182.1	<i>mellifera</i>	sötét európai méh
KJ396183.1	<i>mellifera</i>	sötét európai méh
KJ396184.1	<i>mellifera</i>	sötét európai méh
KJ396185.1	<i>mellifera</i>	sötét európai méh
KJ396186.1	<i>mellifera</i>	sötét európai méh
KJ396187.1	<i>mellifera</i>	sötét európai méh
KJ396188.1	<i>mellifera</i>	sötét európai méh
KJ396189.1	<i>mellifera</i>	sötét európai méh
KM458618.1	<i>intermissa</i>	észak-afrikai méh
KP163643.1	<i>syriaca</i>	szíriai méh
KX870183.1	<i>capensis</i>	fokföldi méh
KX943034.1	<i>scutellata x capensis</i>	kelet afrikai magasföldi x fokföldi méh
KY464957.1	<i>meda</i>	perzsa méh
KY464958.1	<i>lamarckii</i>	egyiptomi méh
KY614238.1	<i>scutellata</i>	kelet-afrikai magasföldi méh
KY926884.1	<i>mellifera</i>	sötét európai méh
MF678581.1	<i>monticola</i>	kelet-afrikai hegyi méh
MG552681.1	<i>capensis</i>	fokföldi méh
MG552682.1	<i>capensis</i>	fokföldi méh
MG552687.1	<i>capensis</i>	fokföldi méh
MG552692.1	<i>capensis</i>	fokföldi méh
MG552693.1	<i>capensis</i>	fokföldi méh
MG552694.1	<i>capensis</i>	fokföldi méh
MG552697.1	<i>capensis x scutellata</i>	fokföldi x kelet-afrikai magasföldi méh
MG552698.1	<i>scutellata</i>	kelet-afrikai magasföldi méh
MG552699.1	<i>scutellata</i>	kelet-afrikai magasföldi méh
MG552701.1	<i>scutellata</i>	kelet-afrikai magasföldi méh
MG552703.1	<i>scutellata</i>	kelet-afrikai magasföldi méh
MH341407.1	<i>ligustica</i>	olasz méh
MH341408.1	<i>ligustica</i>	olasz méh
MN119925.1	<i>unicolor</i>	madaraszkári méh
MN250878.1	<i>carnica</i>	krajnai méh
MN585108.1	<i>simensis</i>	
MN585109.1	<i>adansonii</i>	nyugat-afrikai méh
MN585110.1	<i>iberiensis</i>	

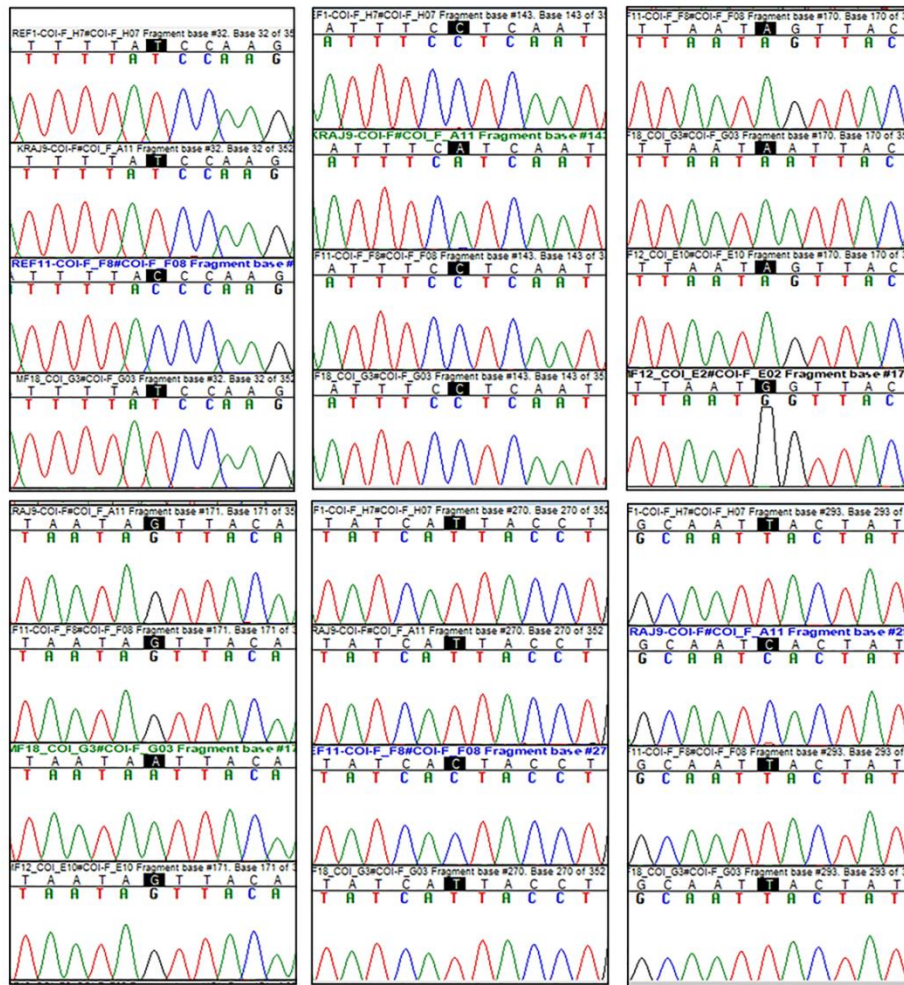
MN714161.1	<i>jemenitica</i>	arab méh
MN714162.1	<i>ruttneri</i>	
MT188686.1	<i>anatoliaca</i>	anatóliai méh
MW811175.1 (=NC_061380)	<i>carnica</i>	krajnai méh
MZ981768.1	<i>siciliana</i>	
OK075087.1	<i>iberiensis</i>	

* alfajok magyar elnevezései Szalainé Mátray (2002) alapján

M4. A tRNA_{leu-cox2} intergénikus régió (COI-COII) értékeléséhez felhasznált haplotípus szekvenciák az NCBI adatbázisból és azok általánosan elfogadott nevezéktana

Génbanki azonosító	NCBI génbankban a haplotípus neve
FJ824582.1	C1
FJ824584.1	C2d
FJ824586.1	C2e
GQ433625.1	C2l
HM117904.1	C2p
HM117905.1	C2q
HM117906.1	C2r
HQ260344.1	M17a
HQ260351.1	M40
HQ260353.1	M42
HQ260355.1	M46
HQ260359.1	M50
HQ260368.1	M24
HQ260370.1	M19a
HQ337446.1	M13
JF723978.1	C2j
JQ754648.1	C2z
JQ754649.1	C2x
JQ754650.1	C2y
JQ973663.1	C2t
JQ973664.1	C2v
JQ97703.1	C2i
JQ977704.1	C2o
MG788257.1	C2aa
MT741498.1	C2u
MT741499.1	C2w
MT741500.1	C2ab
MT741501.1	C2ac
MT741502.1	C2ad
MT741503.1	C2ae
MT741505.1	C2ag
MW677198.1	A1e
MW677211.1	A4p

M5. A *COI* szekvenciák reprezentatív kromatogramjai



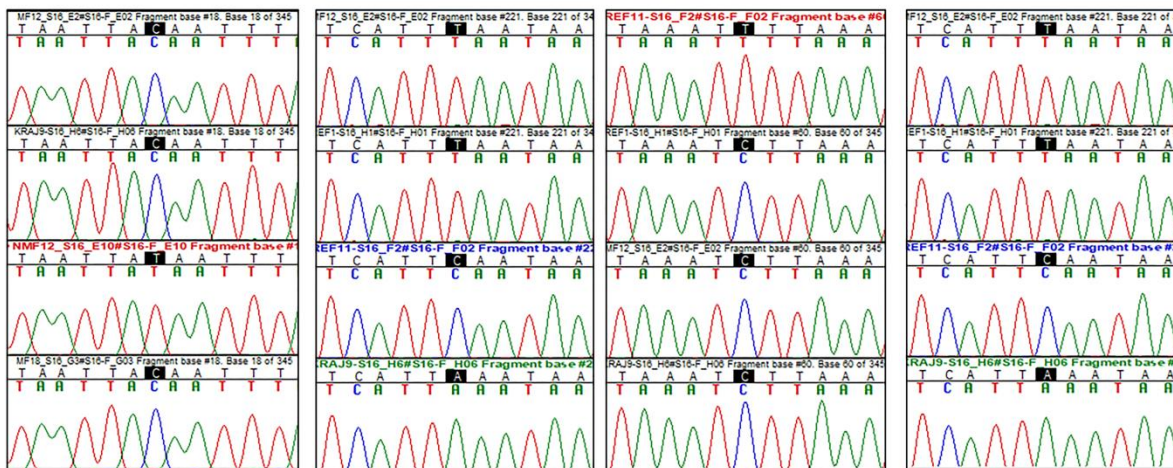
M6. A COI gén 180. pozíciójában lévő polimorfizmusból eredő aminosavcsere (izoleucin (I) helyett metionin (MET))

Score	Expect	Method	Identities	Positives	Gaps
434 bits(1116)	3e-161	Compositional matrix adjust.	241/244(99%)	242/244(99%)	2/244(0%)
Query 1	IIKSTOPFISTNHKNIGILYIILALSTOPSGILGSSMETRLIIRIELRSPGSSTOPINND				60
Sbjct 1	IIKSTOPFISTNHKNIGILYIILALSTOPSGILGSSMETRLIIRIELRSPGSSTOPINND				60
Query 61	QIYNTIVTSHAFLIIFFIVIPFLIGGFGNWLIPILGSPDIAFPRINNIRFSTOPLLPPS				120
Sbjct 61	QIYNTIVTSHAFLIIFFIVIPFLIGGFGNWLIPILGSPDIAFPRINNIRFSTOPLLPPS				120
Query 121	LFILLLRNLFYPRPGTGSTOPTVYPPLSAYLYHSSPSVDFAI FSLHISGISSIIGSLNLI				180
Sbjct 121	LFILLLRNLFYPRPGTGSTOPTVYPPLSAYLYHSSPSVDFAI FSLHISGISSIIGSLNLM				180
Query 181	--VTIIIIKNFSINYDQISLFPSTOPSVFITAILLIISLPVLAGAITILLFDRNFNTSFF				238
Sbjct 181	ETVTIIIIKNFSINYDQISLFPSTOPSVFITAILLIISLPVLAGAITILLFDRNFNTSFF				240
Query 239	DPIG	242			
Sbjct 241	DPIG	244			

M7. A COI gén 181. pozíciójában lévő polimorfizmusból eredő aminosavcsere (valin (V) helyett izoleucin (I))

Score	Expect	Method	Identities	Positives	Gaps
438 bits(1127)	4e-163	Compositional matrix adjust.	241/242(99%)	242/242(100%)	0/242(0%)
Query 1	IIKSTOPFISTNHKNIGILYIILALSTOPSGILGSSMETRLIIRIELRSPGSSTOPINND				60
Sbjct 1	IIKSTOPFISTNHKNIGILYIILALSTOPSGILGSSMETRLIIRIELRSPGSSTOPINND				60
Query 61	QIYNTIVTSHAFLIIFFIVIPFLIGGFGNWLIPILGSPDIAFPRINNIRFSTOPLLPPS				120
Sbjct 61	QIYNTIVTSHAFLIIFFIVIPFLIGGFGNWLIPILGSPDIAFPRINNIRFSTOPLLPPS				120
Query 121	LFILLLRNLFYPRPGTGSTOPTVYPPLSAYLYHSSPSVDFAI FSLHISGISSIIGSLNLI				180
Sbjct 121	LFILLLRNLFYPRPGTGSTOPTVYPPLSAYLYHSSPSVDFAI FSLHISGISSIIGSLNLI				180
Query 181	VTIIIIKNFSINYDQISLFPSTOPSVFITAILLIISLPVLAGAITILLFDRNFNTSFFDP				240
Sbjct 181	ITIIIIKNFSINYDQISLFPSTOPSVFITAILLIISLPVLAGAITILLFDRNFNTSFFDP				240
Query 241	IG	242			
Sbjct 241	IG	242			

M8. A 16S szekvenciák reprezentatív kromatogramjai



M9. A vizsgált méhcsoportok genetikai varianciája a COI mtDNS régió alapján

Csoport	H	Hd $\pm$ SD	$\pi \pm$ SD	Fs	D	p (D*)
MF	3	0,095 $\pm$ 0,050	0,0003 $\pm$ 0,0002	-2,607	-1,315	ns
NMF	1	0	0	0	0	ns
REF	2	0,387 $\pm$ 0,078	0,0022 $\pm$ 0,0005	2,693	1,123	ns
KRAJ	2	0,525 $\pm$ 0,055	0,0030 $\pm$ 0,0003	2,834	1,899	**
ÖSSZES	5	0,233 $\pm$ 0,046	0,0012 $\pm$ 0,0003	-1,551	-1,256	ns

Haplotípus száma (H), haplotípus (Hd) és nukleotid (π) diverzitás, szórás (SD), Fs – Fu's Fs érték, D – Tajima's D érték és a szignifikancia szintje (p (D*)), a DnaSP v6.12.03 szoftverrel számítva, ns = nem szignifikáns ($P > 0,10$), ** $P \leq 0,05$

MF – fajtastandardnak megfelelt pannon méhek, NMF – morfológiailag hibás pannon méhek, REF – Buckfast hibrid, olasz méh x Buckfast hibrid, és olasz méh alfajok egyedei, KRAJ – más Európai országokból származó krajnai méhek

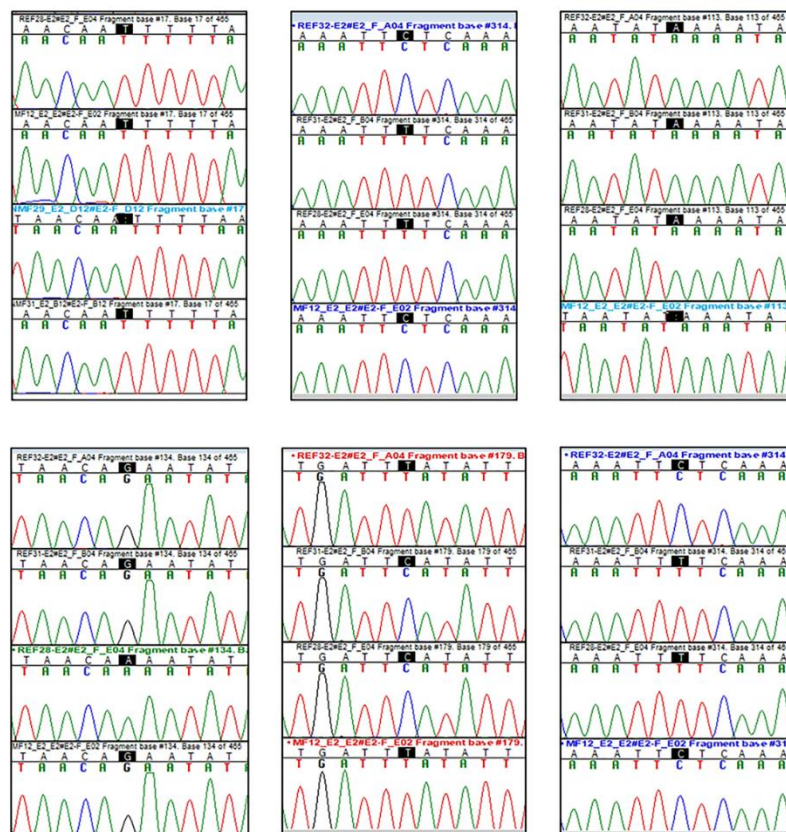
M10. A vizsgált méhcsoportok genetikai varianciája a 16S mtDNS régió alapján

Csoport	H	Hd $\pm$ SD	$\pi \pm$ SD	Fs	D	p (D*)
MF	2	0,125 $\pm$ 0,055	0,0004 $\pm$ 0,0002	-0,261	-0,533	ns
NMF	2	0,498 $\pm$ 0,039	0,0014 $\pm$ 0,0001	1,67	1,535	ns
REF	2	0,387 $\pm$ 0,078	0,0034 $\pm$ 0,0007	3,932	1,292	ns
KRAJ	2	0,525 $\pm$ 0,055	0,0015 $\pm$ 0,0002	1,333	1,474	ns
ÖSSZES	4	0,385 $\pm$ 0,048	0,0018 $\pm$ 0,0003	0,367	-0,622	ns

Haplotípus száma (H), haplotípus (Hd) és nukleotid (π) diverzitás, szórás (SD), Fs – Fu's Fs érték, D – Tajima's D érték és a szignifikancia szintje (p (D*)), a DnaSP v6.12.03 szoftverrel számítva, ns = nem szignifikáns ($P > 0,10$)

MF – fajtastandardnak megfelelt pannon méhek, NMF – morfológiailag hibás pannon méhek, REF – Buckfast hibrid, olasz méh x Buckfast hibrid, és olasz méh alfajok egyedei, KRAJ – más Európai országokból származó krajnai méh

M11. A tRNA^{Leu}-cox2 intergénikus régió (COI-COII) intergénikus régió szekvenciáinak reprezentatív kromatogramjai



M12. Mikroszatellit markerek alapján meghatározott ritka és/vagy kizárólag az egyes vizsgált méhcsoportokban előforduló allélok gyakorisággal (%)

Marker	Allélméret (bp)	Méhcsoportokon belüli allélgyakoriság (%)			
		MF	NMF	REF	KRAJ
Ap066	121	2,34	6,45	1,56	
	131	4,69	1,61	1,56	
Ac306	185	0,78		4,69	
	187	0,78			
	190	3,13	3,33		
	192	8,59	6,67	7,81	
	193			4,69	
	199	0,78			
	203	3,91	3,33	1,56	
	209			1,56	
Ap218	138	4,69			
	140	3,91	3,13	6,25	
	142	4,69	7,81	1,56	3,13
A007	119			3,13	
	123	9,38	4,84	9,38	
	125	0,78		6,25	
	130	0,78			
	132		3,23		
	140	3,13	3,23	7,81	
	142	0,78			
	146	1,56	6,45		
	150			1,56	
	152			9,38	
	156		3,23		
	164			3,13	
Ap033	235	0,78			
	239	0,78			
	243		4,84	15,63	
	245	3,13	1,61		
	247	5,47	8,06	4,69	6,25
	257	14,84	4,84	7,81	3,13
	263	3,91	4,84	3,13	3,13
	265	1,56	3,23	4,69	
	267	1,56	6,45		3,13
	271	2,34			
A107	158			7,81	
	160			1,56	
	168				6,25
	170	1,56			

	172	3,91			
	192	2,34	1,61		
	194	0,78	1,61		
	196	1,56	3,23	1,56	
	198	0,78		1,56	
	200	0,78			
	208			1,56	
	210			1,56	
Ap081	145	0,78		3,13	
	151			1,56	
	153	3,91		1,56	
	157	5,47	6,67	3,13	6,25
	159	3,13		3,13	
AB24	124				9,38
A113	216		6,25		
	220	0,78		4,69	
	228	0,78			
	234	3,91	7,81	1,56	
	236			3,13	
	238	10,16	7,81	31,25	9,38
	240			1,56	
	242	3,13			
	244	1,56	1,56	1,56	
	246	3,91		3,13	
	248	1,56	3,13		
	252	1,56			9,38
	254	5,47			
	256	0,78			
	258	1,56			
A008	200	3,13		4,69	
Ap35	117	3,91		4,69	
	119		1,56		3,13
	128	4,69			
	129	2,34	1,56		
	134	0,78	9,38	1,56	
	135			3,13	
	137	2,34			
	140			4,69	
	142		3,13		
A029	150			4,69	
	152			3,13	
	154	1,56			
	158	0,78	1,56		
	160	5,47	9,38	3,13	9,38

	164	4,69	1,56	1,56	
	176	2,34	6,25	4,69	
	178	5,47		3,13	6,25
	180	5,47	7,81	1,56	3,13
	182	2,34	4,69		
	184	3,13			
	186	5,47			
	188	2,34	3,13		
	190	0,78		3,13	
	192	1,56			
	196			6,25	
	198	0,78			
	200		4,69		
	216	0,78			
Ap049	140	5,47	1,56	7,81	
	146	3,13	1,56	7,81	9,38
	155			1,56	
	162	0,78			
	167	0,78	1,56		
	174	0,78	1,56		
Ac011	131	2,34	3,23	17,19	
	141	6,25	3,23	1,56	
	143	2,34		1,56	
	145	1,56	1,61	4,69	3,13
	147	1,56			
	149	0,78			
Ap043	149		3,23		
	155	0,79			
	157	1,59			
	163	7,94	3,23	6,25	
	165	2,38	3,23	7,81	
	195			1,56	
Ap055	201		4,84	3,13	
	203	1,56		4,69	
	205	0,78			
	207	3,13			
	223	3,91			
	225		1,61		
Ap226	249	8,59	8,06	6,25	
	251		1,61		
	259	0,78		1,56	
	261			4,69	
	273		1,61		
A88	152	0,78			

	157			20,97	
	162	0,78			
	164			6,45	
	170	4,69	1,56		
	171	1,56	1,56		
Ap289	192	0,81			
	194	1,61			
	198	0,81			
	208	0,81			
	216	4,84	4,69		
	220	4,03			
	224			1,61	
	226	0,81			
	228	0,81	1,56		
	230	1,61	3,13	1,61	9,38
	232	3,23	1,56		
	234	1,61			
	236	1,61			
	238	0,81			
Ap307	168	2,34	1,56		
	170	1,56			

MF – fajtastandardnak megfelelt pannon méhek, NMF – morfológiailag hibás pannon méhek, REF – Buckfast hibrid, olasz méh x Buckfast hibrid, és olasz méh alfajok egyedei, KRAJ – más Európai országokból származó krajnai méhek

Az egyes csoportokban kizárólagosan előforduló allélok szín kódjai: kék – MF, zöld – NMF, narancs – REF, piros – KRAJ, lila – NMF és REF csoportokban együttesen

11. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretném megköszönni mindenkinek a segítséget, aki bármilyen módon hozzájárult a dolgozatom elkészítéséhez.

Mindenekelőtt köszönöm Dr. Pálincás-Bodzsár Nórának, hogy elvállalta a témavezetésemet. Külön köszönettel tartozom neki a dolgozatom elkészítése során nyújtott értékes szakmai iránymutatásáért, támogatásáért, amely jelentős segítséget jelentett számomra ezen a hosszú rögös úton.

Emellett szeretném megköszönni Dr. Hidas András értékes hozzászólásait a munkához.

Köszönöm Dr. Molnár Tamás Gergelynek a mitokondriális DNS elemzések és a populációgenetikai módszerek kiértékelésében nyújtott segítségét, valamint a tanulmány létrehozásában való közreműködését.

Ezen felül köszönettel tartozom Edviné Meleg Erikának és Lipcsei Józsefnének, Icának, a laboratóriumi munkában nyújtott segítségükért. Erikának külön is szeretném megköszönni, hogy bevezetett a méhek DNS izolálásának gyakorlatába.

Köszönöm Dr. Liptói Krisztinának a lehetőséget, hogy a Nemzeti Biodiverzitás- és Génmegőrzési Központ, azon belül a Haszonállat-génmegőrzési Intézet Génmegőrzés-tudományi és Kisállattenyésztési Osztályán helyszínt és erőforrásokat (VEKOP-2.3.2.-15-2016-00012) biztosított a vizsgálatokhoz, és az általa vezetett kutatócsoportban végezhettem el doktori munkámat.

Hálás vagyok kollégáimnak, Dr. Sztán Nikolettának és Dr. Szabó Gergelynek a lelki támogatásért.

Hálás vagyok a Méhészeti és Méhbiológiai Osztály munkatársainak, kiemelve Dr. Zajác Editet és Kobzi Tímeát, hogy segítséget nyújtottak a méhekkel és a morfológiai fajtaminősítéssel kapcsolatos kérdésekben.

Köszönettel tartozom a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem (MATE) Állatbiotechnológiai és Állattudományi Doktori Iskolájának, különösen Prof. Dr. Mézes Miklósnak, a kutatási témám befogadásaért és a munkám támogatásáért, illetve Makádiné Farkas Anasztáziának a sok segítségért.

Köszönök minden segítséget a MATE Doktori és Habilitációs Központ munkatársainak, Hajdú Mónikának és Megyeri Ágnesnek.

A Magyar Méhtenyésztők Országos Egyesületének (MMOE) köszönöm a munka támogatását, főleg Schrek Ottónak és Horváth Jánosnak.

Végül, de nem utolsó sorban szeretném megköszönni családomnak a folyamatos támogatást, valamint minden szőrös és nem szőrös állatnak, akik nap, mint nap örömet csempészték az életembe, és hozzájárultak ahhoz, hogy ezt az utat végig tudjam járni.