

Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei

**A MAGYARORSZÁGI MÉZELŐMÉH-POPULÁCIÓKBAN (*APIS MELLIFERA*
CARNICA PANNONICA POLL.) MEGJELENŐ HATÁR MENTI FAJTÁK
KIMUTATÁSA GENETIKAI ÉS MORFOLÓGIAI MÓDSZEREKKEL**

Péntek-Zakar Erika

Témavezető: Dr. Kusza Szilvia Ph.D.



DEBRECENI EGYETEM
Állattenyésztési Tudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2014.

TARTALOMJEGYZÉK

TARTALOMJEGYZÉK	2
I. A DOKTORI ÉRTEKEZÉS ELŐZMÉNYEI ÉS CÉLKITŰZÉSEI	3
1.1. A VIZSGÁLAT CÉLKITŰZÉSEI.....	4
II. A KUTATÁS MÓDSZEREI.....	5
2.1. MITOKONDRIÁLIS DNS VIZSGÁLAT.....	5
2.2. MIKROSZATELLIT VIZSGÁLAT.....	6
2.3. FAJTAJELLEG VIZSGÁLAT	7
III. AZ ÉRTEKEZÉS FŐBB MEGÁLLAPÍTÁSAI.....	9
3.1. A MITOKONDRIÁLIS DNS VIZSGÁLAT EREDMÉNYEI.....	9
3.2. MIKROSZATELLIT VIZSGÁLAT EREDMÉNYEI	13
3.3. FAJTAJELLEG VIZSGÁLAT EREDMÉNYEI	21
IV. AZ ÉRTEKEZÉS ÚJ, ILLETVE ÚJSZERŰ MEGÁLLAPÍTÁSAI.....	23
V. AZ EREDMÉNYEK GYAKORLATI HASZNOSÍTHATÓSÁGA.....	24
VI. PUBLIKÁCIÓK AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN.....	25

I. A DOKTORI ÉRTEKEZÉS ELŐZMÉNYEI ÉS CÉLKITŰZÉSEI

A méhészet az állattenyésztés különleges ágazata. A méhek élete sokkal jobban függ a természetes környezettől, illeszkedik az ökológiai gazdálkodáshoz, mint a többi ágazat, nem csupán élelmiszer előállító funkciójával, hanem közvetett hasznán, a megporzáson keresztül is.

Magyarországon is felbecsülhetetlen hasznót jelent a közel félmillió méhcsalád beporzó tevékenysége, mely a biodiverzitás fenntartásán túl elősegíti a mezőgazdasági kultúrák termésátlagának növekedését is (Szalainé, 2002). A magyar méhészet a mezőgazdaság bruttó termelési értékének 1%-át, míg az állattenyésztés közel 3%-át adja (47/2010. (XII. 31.) VM rendelet).

A méhek természetes úton a szabadban párosodnak, ezért a here nem ismert, azonosítása nem megoldható. Ebből következően nagyon nehéz kontrollálni a párosodásokat, így a fajták közötti génáramlás általános (Franck és mtsai, 1998). Mindkét szülő ismeretének, és így a klasszikus tenyésztési eljárások bevezetésének egyik feltétele a populációk genetikai variációjának hazai kutatása, az esetleges génszennyezések felismerése, illetve az eredmények adaptálása és alkalmazása a méhtenyésztésben is. A XX. század elejétől jellemző a méhtenyésztésben a méhanyák kereskedelme, ahol főként a kiváló fajták dominálnak, mint az *Apis mellifera ligustica* fajta Olaszországban, és az *Apis mellifera carnica* fajta a volt Jugoszláviában és Északnyugat-Európában (Peer, 1957).

Jelenleg az egyetlen elismert és tenyészthető méhfajta Magyarországon a krajnai fajta, és annak pannon változata (*Apis mellifera carnica pannonica*) (pannon méh). Tenyésztése évek óta állami felügyelet mellett ellenőrzött és szabályozott körülmények között folyik. Ennek ellenére a méhészeti termékek exportja mellett jelenleg már a méhanyák exportjával és importjával, valamint az esetleges természetes hibridizálódással is számolni kell. Ennek következtében a Kárpát-medence ökológiai feltételeihez kiválóan alkalmazkodott, az évszázadok alatt meghonosodott, illetve az anyanevelők által kialakított *Apis mellifera carnica pannonica* génállományának megváltozására is számítani lehet (Szalainé, 2000).

Hipotézisünk igazolására molekuláris genetikai valamint fajtajelleg vizsgálatokat végeztünk. E két módszer kiválóan kiegészíti egymást, mivel csupán fenotípusos jegyek felmérésével igen nehéz meghatározni egy – egy populáció genetikai értékét, azaz más genotípusoktól való eltérés mértékét. Mivel a genetikai állomány többsége nem fejeződik ki fenotípusosan, a génmegőrzést szolgáló tenyésztés egyik fő feladata e ritka allélok felkutatása, majd fenntartása és megőrzése. A molekuláris genetikai markerek nagymértékű

polimorfizmust mutatnak, ezért kiváló eszközei egyedek és állományok genetikai analízisének, valamint populációk genetikai összehasonlításának is.

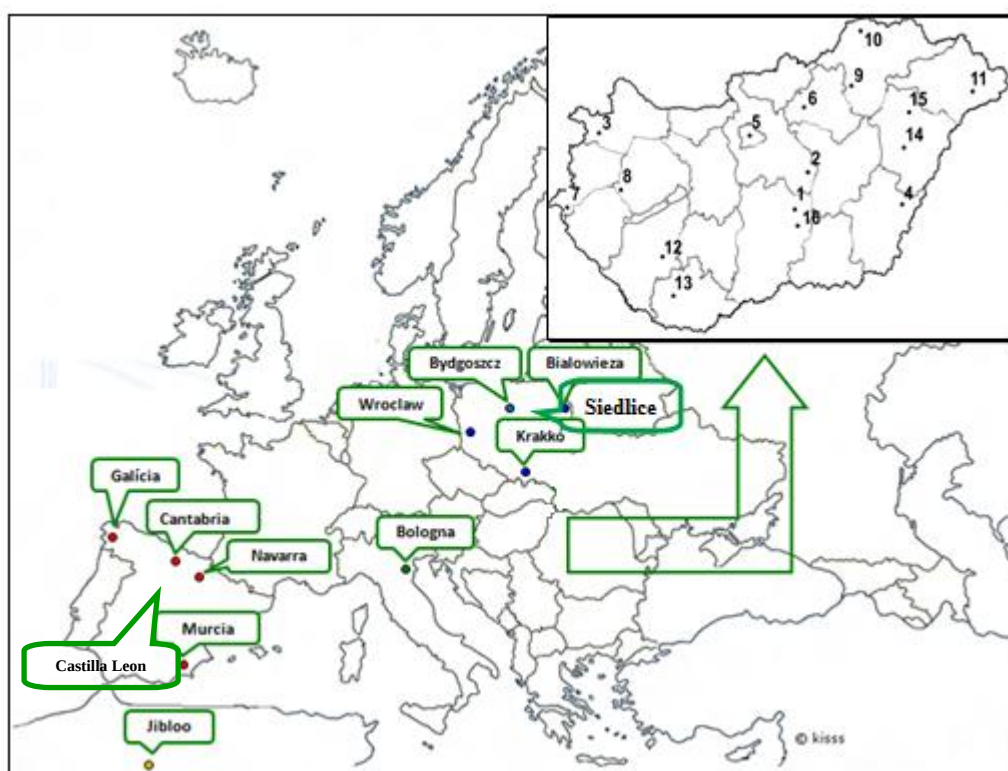
1.1. A vizsgálat célkitűzései

A magyar mézelőméh-populációkban megjelenő idegen méhfajták kimutatása genetikai markerekkel (mitokondriális DNS és mikroszatellit markerek) valamint fajtajelleg vizsgálati paraméterek felhasználásával.

- A hazai mézelőméh-populációk és külföldi kontroll állományok, valamint a génbankban elérhető szekvenciák haplotípusainak kimutatása a mitokondriális citokró-m-oxidáz I régió egy meghatározott szakasza által.
- A honos krajnai pannon méh genetikai diverzitásának vizsgálata, és összehasonlítása kontroll populációkkal mikroszatellit markerek segítségével.
- A honos mézelőméh-populációk jellemzése három gyakran alkalmazott fajtajelleg vizsgálati paraméteren túl (szín, szipóka hossza, kubitális index) egy, a hazai gyakorlatban új paraméter bevonásával (K19-es szög).

II. A KUTATÁS MÓDSZEREI

Magyarországon 16 álló méhészetből gyűjtöttünk mintát 2010 nyarán. Minden méhészetből öt családot mintáztunk meg; minden családból tíz darab, öt-hét napos lefedés előtti dolgozó álca került begyűjtésre. Vizsgálatba vontunk továbbá Olaszországból (Bologna) az *A. m. ligustica* fajta (n=15), Libériából (Jibloo) *A. m. adansonii* fajta (n=15), Spanyolországból (Galícia, Cantabria, Navarra, Murcia, Castilla Leon) *A. m. iberica* fajta (n=10), Lengyelországból (Krakkow, Bialowieza, Siedlice, Bydgoszcz, Wroclaw) pedig *A. m. mellifera/carnica* fajták (n=50) kifejlett egyedeit, valamint hazánkból rendelkezésre álltak a Buckfast hibrid egyedei (n=20) is (1. ábra).



1. ábra: A vizsgálatba vont hazai illetve kontroll méhészetek

A dolgozó álcákat egyenként 1,5 µl-es eppendorf csövekbe helyeztük a laboratóriumba szállításig, majd -20 °C tároltuk a genomiális DNS izolálásáig.

2.1. Mitokondriális DNS vizsgálat

A mitokondriális DNS vizsgálatához kettő mézelő méh dolgozó álcát használtunk fel családonként, minden méhészetből három családot mintáztunk meg (n=96), a külföldi

populációkból átlagosan tíz egyedet (n=84) vontunk vizsgálatba. Ezen kívül az NCBI adatbankból 53 referencia szekvencia állt rendelkezésünkre.

A mitokondriális DNS COI génjének egy meghatározott szegmensét PCR (Polimerase Chain Reaction) segítségével amplifikáltuk az általunk tervezett következő primerek alkalmazásával: forward (5'-CTGATATAGCATTCCCCCGAATA-3') és reverse (5'-AGAATTGGATCTCCACGTCCTA-3').

A tisztított PCR terméket minden esetben postázásig -20 °C-on tároltuk. A szekvenálást a Eurofins MWG Operon (Németország) cég végezte.

Az adatok statisztikai értékelése során a BioEdit, ClustalX, DnaSP v. 5.10., Mega v. 5, Network v. 4.6.1.1 illetve GenAlex v. 6.4 programokat használtuk. A variábilis pozíciók meghatározása során az NCBI adatbankban található teljes *A. m. ligustica* (Acc. no.: L06178.1) mitokondriális genomot alkalmaztuk. Az interneten elérhető FindModel program segítségével megállapítottuk a kapott szekvenciákhoz ideális Hasegawa-Kishino-Yano (HKY) plus Gamma modellt. A megfelelő algoritmus ismeretében Maximum-Likelihood („legnagyobb valószínűség”) filogenetikai fát szerkesztettünk. A filogenetikai fa szerkesztésekor kontrollként egy, a domesztikált méhfajtától genetikailag távol lévő vadméh fajt (*Trigona amalthea*, Acc. no.: AF214669) választottunk.

2.2. Mikroszatellit vizsgálat

A mikroszatellit analízishez három méh álcát dolgoztunk fel családonként a magyar méhészetekből, minden populációból öt családot mintáztunk meg (n=236) (Buckfast vonal n=10), valamint 106 külföldi mintát alkalmaztunk.

A PCR reakcióhoz kilenc – irodalmi adatok alapján – leggyakrabban alkalmazott mikroszatellit markert használtunk fel (A7, A113, A107, A28, A88, A14, A35, A(B)24) (Estoup és mtsai, 1995), A43 (Garnery és mtsai, 1998).

A fragment analízist a Biomi Kft. (Gödöllő) laboratóriuma végezte el. A kilenc mikroszatellit markert három multiplexben került futtatásra. A kapott alléleket a PeakScanner v. 1.0 program (Applied Biosystem, USA) segítségével olvastuk le. Az adatok statisztikai értékelése során az Arlequin v. 3.1, GenAlex v. 6.4, Fstat v. 2.9.3, PopGene v. 1. 32. valamint Structure szoftver voltak segítségünkre. A PopGene program által generált output file-ból a Phylip programcsomag (Neighbour program) felhasználásával output file-t generáltunk. A kapott UPGMA filogenetikai fát a TreeView program felhasználásával vizualizáltuk. A Barrier program alkalmazásával lehetőségünk nyílt a vizsgált populációk közötti genetikai

határok szemléltetésére Delaunay háromszög módszer és Monmonier algoritmus alkalmazásával páronkénti F_{ST} értékek alapján.

2.3. Fajtajelleg vizsgálat

A fajtajelleg vizsgálatához Magyarországon szintén ugyanazon 16 álló méhészetből gyűjtöttünk mintákat, minden méhészetből öt családot mintáztunk meg, minden családból 50-50 kifejlett dolgozó egyedet.

A Magyarországon általánosan alkalmazott fajtajelleg vizsgálati paraméterek (hátlemez színe, szájszerv hossza és a kubitális index) mellett az irodalom alapján alkalmasnak vélt K19-es szöveget vételeztük fel.

A krajnai pannon méhre jellemző a sötét színű potroh. E vizsgálat során az esetleges más színű (sárga) potrohgyűrűk jelenlétét vagy hiányát mértük fel. A Méh Teljesítményvizsgálati Kódex (2003) előírásai alapján a következő kategóriákat különböztettük meg:

- S - a potrohgyűrűk kitinpáncéljának színe sötét
- I - az első tergiten két oldalt sárga folt található
- II – az első tergiten sárga sáv (max.: 4%) található
- III - a második tergiten is jelen van a sárga sáv (kizáró ok)
- IV - a harmadik tergiten is sárga sáv található (kizáró ok)

A szipóka boncolása során összesen 20 méhegyed fejét vágtuk le egy családból, majd törekedtünk arra, hogy a boncolás során a szipóka ne szakadjon, vagy a vége szakadjon. A kiboncolt szipókákat a mérés pillanatáig alkoholban (70%) tároltuk a kiszáradás elkerülése érdekében. A szipókákat a tárgylemezen cellux segítségével rögzítettük. Mikrofilm olvasóval, valamint a hozzá tartozó vonalzó segítségével mértük a hosszukat. A szipóka mérete (submentum+mentum+glossa) 6,50-6,80 mm közötti érték lehet az elfogadott fajtasztenderd alapján, de minimum 6,50 mm.

Az első szárnyon található kubitális index (CI) vizsgálatához szintén minden családból 20 egyed első szárnyát preparáltuk, majd alkoholban tároltuk (70%) az adatok felvételéig. A kubitális index értéke a fajtasztenderd alapján 2,30-3,00 közötti számított értéket mutat. A szárnyak felragasztása 12,2 x 3,9 cm-es, fehér címkével ellátott üveglapokra történt. A fehér címkén a család számát illetve a tenyésztő kódszámát rögzítettük. Egy sorban nyolc egyed szárnyát, egy oszlopban pedig hat egyed első szárnyát ragasztottuk, így összesen egy

tárgylemezen 48 egyed szárnypreparátuma állt rendelkezésünkre. A ragasztás és száradás után a mérésekhez Carl Zeiss mikroszkóp volt segítségünkre. A mérésekhez szükséges műszereket a Haszonállat-génmegőrzési Központ Méhtenyésztési és Génmegőrzési Csoport bocsátotta rendelkezésünkre.

Az első szárnyon mérhető K19-es szög felvételezését Optika mikroszkóp, és a hozzá kapcsolódó Optika Micro Image Analysis Software segítségével végeztük el, melyet a Debreceni Egyetem Természetvédelmi Állattani és Vadgazdálkodási Tanszéke bocsátott rendelkezésünkre.

Az egyes paraméterek értékeit Excel táblázatban rögzítettük és értékeltük.

III. AZ ÉRTEKEZÉS FŐBB MEGÁLLAPÍTÁSAI

3.1. A mitokondriális DNS vizsgálat eredményei

Megállapítottuk, hogy a citokró-m-oxidáz I (CO I) mitokondriális régió egy adott szakaszának szekvenciái által 17 haplotípus mutatható ki a magyarországi és külföldi kontroll egyek által. Továbbá kimutattuk, hogy a Ht 9 domináns Közép-Európában, és gyakorisága déli irányban egyre nőtt. A Ht 8, Ht 11 és Ht 12 új haplotípusként jelent meg Magyarországon, az NCBI adatbázisban nem szerepelt. Spanyolországból a Ht 4, Ht 13 és Ht 14, valamint Lengyelországból a Ht 5, Ht 6 és Ht 7 jelent meg újként. Míg a libériai populáció esetében (n=10) minden minta azonos, a Ht 15 tagja, addig a Buckfast vonal minden egyede (n=10) beolvadt a Közép-Európában leggyakoribb haplotípusba, mely a Ht 9.

1. táblázat: A vizsgált populációk mtDNS diverzitás indexei
n elemszám, *N hap* haplotípusok száma, *Hd* haplotípus diverzitás, *Pi* nukleotid diverzitás

Populációk	Fajták	n	<i>N hap</i>	<i>Hd</i>	<i>Pi</i>
Magyarország	<i>A. m. carnica</i>	96	7	0,296±0,060	0,0009±0,001
Libéria	<i>A. m. adansonii</i>	10	1	0,000±0,000	0,000±0,000
Spanyolország	<i>A. m. iberica</i>	10	4	0,533±0,180	0,007±0,004
Lengyelo.-Bydgoszcz	<i>A. m. mellifera</i>	10	5	0,756±0,130	0,007±0,004
Lengyelo.-Krakow	<i>A. m. carnica</i>	10	3	0,600±0,131	0,001±0,001
Lengyelo.-Bialowieza	<i>A. m. carnica</i>	9	2	0,389±0,164	0,001±0,001
Lengyelo.-Wroclaw	<i>A. m. mellifera</i>	5	2	0,356±0,159	0,004±0,003
Lengyelo.-Siedlice	<i>A. m. carnica</i>	10	2	0,400±0,237	0,001±0,001
Magyarország	Buckfast vonal	10	1	0,000±0,000	0,000±0,000
Olaszország	<i>A. m. ligustica</i>	10	2	0,356±0,159	0,004±0,003

A mintaszámmal arányosan a legtöbb haplotípust a magyar populációkban detektáltuk (*N hap*=7), a legnagyobb diverzitást pedig a Lengyelországból származó bydgoszezi populációban állapítottuk meg.

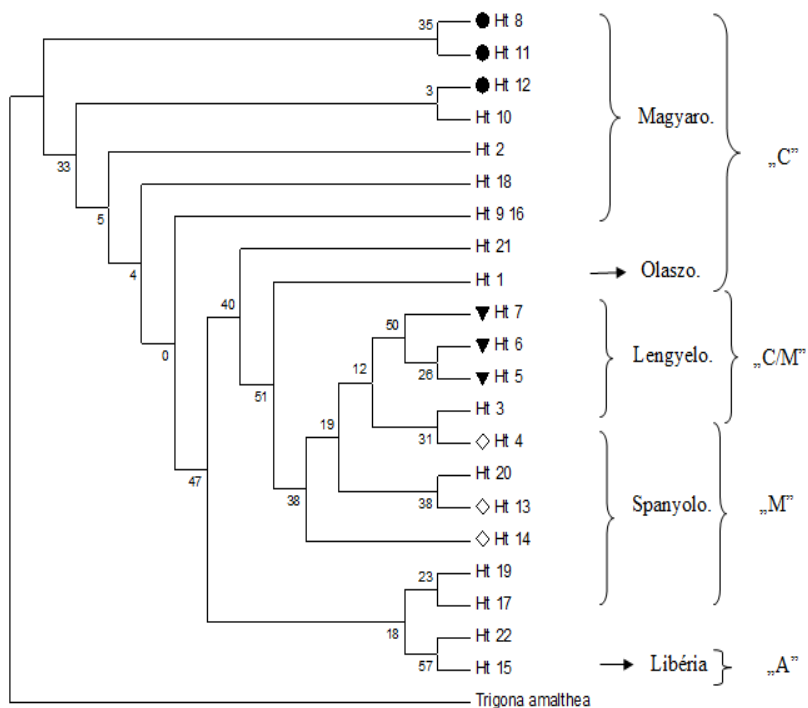
A haplotípus diverzitás közepes vagy közepes feletti értékeket mutatott, amely a nukleotid diverzitásról szintén elmondható. Kivételt képezett a Libériából származó populáció, valamint a Buckfast vonal általunk vizsgált egyedei (1. táblázat).

Meghatároztuk a referencia szekvenciához (Accession number: L06178.1 *Apis mellifera ligustica* teljes mitokondriális genom) viszonyított 15 variábilis pozíciót az általunk

meghatározott 17 haplotípusban. A nukleotid csere 11 esetben tranzíció volt, három esetben transzverzió (C/A, T/A, A/T), és egy esetben, a 2169-es pozícióban mind tranzíció (G/A) mind transzverzió (G/C) lezajlott.

Megállapítottuk, hogy magyar, és minden általunk vizsgált európai populációktól mitokondriális DNS alapján legtávolabb a libériai populáció található. A magyar populációktól Bydgoszcz (0.870) és Wroclaw (0.883) méhpopulációi is igen jelentős genetikai távolságot mutattak. Ez feltételezhetően azért következett be, mivel Lengyelország az *A. m. mellifera* és *A. m. carnica* fajták határán fekszik.

A legkisebb távolságértékek a magyar populációk, valamint a lengyel bialowiezai (0.061), siedlicei (0.042) és krakkowi (0.160) populációk között jelentek meg. Az alacsony távolságértékek arra utalnak, hogy az említett három lengyel populáció a magyarokhoz hasonlóan krajnai jellegű, és egyedeinek jelentős része a „C” származási vonalhoz tartozik. Az olasz és magyar populációk közötti alacsony távolságértékek (0.277) szintén a közös származást bizonyítják (2. táblázat).

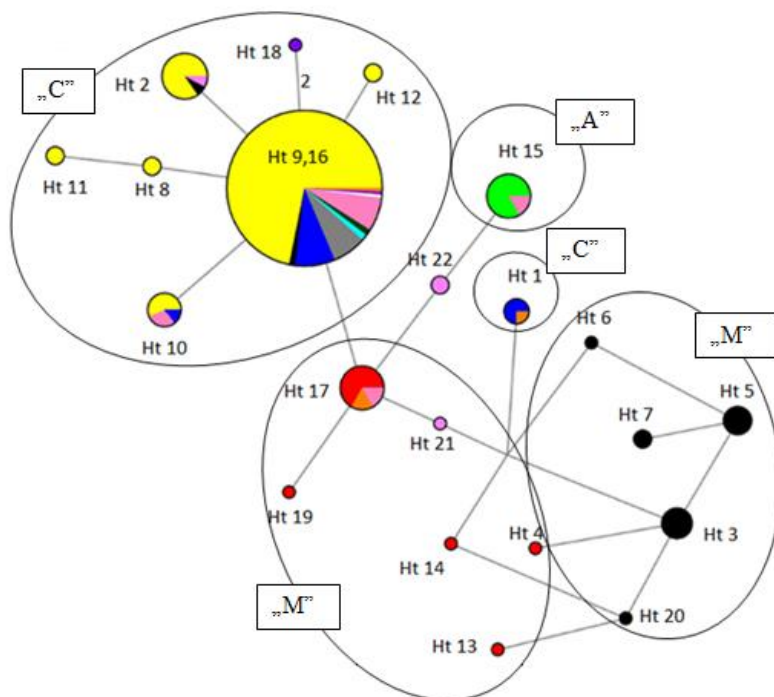


2. ábra: Maximum Likelihood filogenetika fa, Hasegawa Kishino Yano plusz Gamma model, Bootstrap futtatások száma: 10.000
 (●- új haplotípus Magyarországon, ▼- új haplotípus Lengyelországban ◊- új haplotípus Spanyolországban

2. táblázat: A populációk közötti páronkénti F_{ST} értékek
 ns- nem szignifikáns * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

	Magyarország	Olaszország	Bialowieza	Siedlice	Krakkow	Bydgoszcz	Wroclaw	Spanyolország	Libéria
Magyarország	-	***	ns	***	ns	**	***	***	***
Olaszország	0,277	-	***	***	***	**	ns	**	ns
Bialowieza	0,061	0,105	-	***	***	***	***	***	***
Siedlice	0,042	0,111	-0,116	-	***	***	***	***	***
Krakkow	0,160	0,129	-0,081	-0,064	-	***	**	***	***
Bydgoszcz	0,870	0,521	0,666	0,678	0,657	-	ns	ns	ns
Wroclaw	0,883	0,510	0,758	0,771	0,725	0,145	-	ns	ns
Spanyolország	0,788	0,357	0,523	0,537	0,518	0,418	0,333	-	ns
Libéria	0,938	0,822	0,956	0,957	0,924	0,814	0,908	0,641	-

A felhasznált szekvenciák alapján kilenc új haplotípust detektáltunk, melyek az NCBI adatbankban eddig nem szerepeltek. A fekete körrel jelölt három haplotípust újként határoztuk meg Magyarországról (Ht 8, Ht 11 és Ht 12). Fekete háromszöggel az újként kimutatott három lengyel haplotípust (Ht 5, Ht 6 és Ht 7) jelöltük. A Spanyolországban (Ht 4, Ht 13 és Ht 14) detektált három haplotípust üres rombuszsal jelöltük. A vártakkal összhangban a magyar haplotípusoktól jól elkülönülnek a spanyol haplotípusok, illetve a libériai (Ht 15) haplotípus. A kontrollként alkalmazott *Trigona amalthea* vadméh faj láthatóan jól elkülönült a domesztikált mézelő méhfajtáktól (2. ábra).



3. ábra: A magyar, külföldi kontroll valamint 53 referencia szekvencia által meghatározott haplotípusok egymáshoz való viszonya Median-Joining Network analízissel

Színkód: sárga - *A. m. carnica*, sötétkék - *A. m. ligustica*, fekete - *A. m. mellifera*, szürke - Buckfast vonal, világos zöld - *A. m. adansonii*, piros - *A. m. iberica*, narancssárga - *A. m. sicula*, lila - *A. m. anatolica*, világos kék - *A. m. caucasica*, sötét zöld - *A. m. adami*, fehér - *Bombus terrestris*, rózsaszín - az NCBI adatbankban megjelenő szekvencia a fajta pontos megnevezése nélkül

A Median-Joining Network analízissel készített 3. ábrán a körök mérete arányos a haplotípust alkotó egyedek számával, a különböző színek az egyes fajtákat jelölik. A haplotípusok mellett a haplotípus számát ábrázoltuk.

A magyar méhmintákban előforduló haplotípusok kapcsolatának vizsgálata során megállapítottuk, hogy a magyar krajnai pannon méh egy haplocsoportba tartozik. A

haplocsoporton belül hat jól elkülönült haplotípus látható, mivel a Ht 16 beolvadt a Ht 9-be. A leggyakoribb Ht 9-en belül 1,3%-ban az *A. m. mellifera* fajta, 8,3%-ban az *A. m. ligustica* fajta és 7,05%-ban pedig a Buckfast vonal egyedei jelentek meg. Emellett a Ht 2-ben is kimutatható a fekete méh jelenléte.

3.2. Mikroszatellit vizsgálatok eredményei

Összesen 172 allélt detektáltunk a 10 vizsgált populációban 9 mikroszatellit marker felhasználásával. Az allélok száma 10 és 31 között alakult, ezzel egyenesen arányosan változtak a várt és a valós heterozigotitás, valamint a polimorfizmus index értékei. A legkevesebb allélt az A28 és A(B)24 lókuszon, míg a legtöbbet az A107 lókuszon azonosítottuk.

Az *F*-statisztika eredményei alapján megállapítható, hogy a vizsgált összes lókuszra nézve jelentős számban fordulnak elő heterozigóta egyedek, ebből következően a beltenyésztettségi együttható értékei igen alacsonyak, tehát a vizsgált populációkban a beltenyésztettség nem jellemző.

Az általunk használt markerek az A28 marker kivételével magas polimorfizmus értékkel (PIC átlag=0,635) jellemezhetőek. A legkisebb várt heterozigotitás értéket ($H_e=0,407$) és a legalacsonyabb PIC értéket (PIC=0,36) az A28 marker eredményei mutatták. Ellenben az A107 marker esetében a legmagasabb polimorfizmus index értéket (PIC=0,78) állapítottuk meg.

Igazoltuk, hogy az átlagos populációnkénti tényleges heterozigotitási érték 0,816-0,985 között, míg a várt heterozigotitási érték 0,846-0,634 között változott. Minden populációban magas heterozigotitás értékeket kaptunk, ahol kiemelkedik a libériai állomány ($H_o=0,985\pm0,029$). A magyar méhészetekben kapott magas heterozigotitási értékek arra utalnak, hogy a beltenyésztéses leromlástól jelenleg nem kell tartani. Az allélszámok átlaga $14,3\pm6,2$ (Magyarország) és $3,7\pm1,2$ (Lengyelország – Wrocław) között változott. A magyar méhállományokban az unikális allélok aránya 3,6% (3. táblázat).

A vizsgált populációk Hardy-Weinberg egyensúlytól való eltérését szemléltetni a 4. táblázat. Az eltéréseket három szignifikancia szinten határoztuk meg ($p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,001$). Egyedül a magyar populációk tértek el minden lókuszra nézve a Hardy-Weinberg egyensúlytól $p<0,001$ szignifikancia szinten.

3. táblázat: A vizsgált mézelőméh-populációk heterozigotizációja

n = vizsgált egyedszám, A_p = populációra vonatkozó átlagos allélszám, N_p = privát allélok gyakorisága, H_o = valós heterozigotizáció, H_e = vélt heterozigotizáció

Populáció	Fajta	n	A_p	N_p (%)	H_e	H_o
Magyarország	<i>A. m. carnica</i>	236	14,3±6,2	3,667±0,764	0,657±0,150	0,896±0,224
Libéria	<i>A. m. adansonii</i>	15	8,1±3,0	2,111±0,588	0,846±0,048	0,985±0,029
Spanyolország	<i>A. m. iberica</i>	10	5,2±2,7	0,444±0,242	0,644±0,291	0,816±0,307
Bydgoszcz	<i>A. m. mellifera</i>	15	6,4±3,8	0,000±0,000	0,712±0,151	0,881±0,237
Krakkow	<i>A. m. carnica</i>	15	6,8±3,2	0,111±0,111	0,734±0,143	0,903±0,200
Białowieża	<i>A. m. carnica</i>	15	7,4±2,6	0,222±0,147	0,747±0,129	0,822±0,270
Wrocław	<i>A. m. mellifera</i>	6	3,7±1,2	0,000±0,000	0,709±0,103	0,907±0,188
Siedlice	<i>A. m. carnica</i>	15	6,1±2,2	0,111±0,111	0,756±0,098	0,888±0,309
Magyarország	Buckfast line	10	4,3±1,2	0,222±0,222	0,644±0,217	0,843±0,296
Olaszország	<i>A. m. ligustica</i>	15	5,3±2,7	0,222±0,222	0,634±0,190	0,911±0,266
Átlag (szórás)			6,7±2,8	0,711±0,241	0,708±0,152	0,885±0,232

4. táblázat: A vizsgált populációk Hardy-Weinberg egyensúlytól való eltérése
ns – nem szignifikáns, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

	A113	A107	A28	A88	A14	A(B)24	A43	A35	A7
Magyarország	***	***	***	***	***	***	***	***	***
Libéria		***						*	***
Spanyolország		*			*	***			
Bydgoszcz		***		*			***	*	**
Krakkow		**		*			***	***	***
Bialowieza		***		*	***		**	***	**
Wroclaw								**	
Siedlice		**	**	*			***	***	***
Buckfast		**					**	**	***
Olaszország	*	*		*			***	***	***

A vizsgált kilenc lókuszokon 29 populációban 53 unikális allélt, emellett a magyar populációkban 7 lókuszon 23 állomány specifikus allélt határoztunk meg. A ritka, vagy csupán egy populációban megjelenő allélok kimutatása és megóvása különösen fontos a génmegőrzés szempontjából. A magyar méhészetekben csupán az A28 és A35 lókuszokon nem azonosítottuk specifikus allélokat. A legtöbb egyedi allélt az A107, A113 és A14 lókuszokon detektáltuk, ezért e markerek tekinthetők a leginformatívabbnak.

Mind a páronkénti F_{ST} értékek, mind a Nei-féle korrigált sztenderd genetikai távolságértékek (D_s) alapján hasonló eredményeket kaptunk. Az 5. táblázatban szürkével jelöltük a nem szignifikáns adatokat. A bydgoszcai és wroclawi populációk kivételével ($p < 0,01$) minden más esetben szignifikáns eredményt állapítottunk meg $p < 0,001$ szinten. A magyar populációktól legtávolabban a libériai (0,216) és spanyol (0,291) populációk álltak. A magyar populációktól a Lengyelországban található bydgoszcai (0,167) és wroclawi (0,136) populációk genetikailag nagyobb távolságértéket mutattak a vizsgált mikroszatellit markerek alapján, mint a bialowiezai (0,084), krakkowi (0,029) és siedlicei (0,045) populációk. A krajnai és a fekete méhfajták között elkülönülést állapítottunk meg, melyet a Barrier programmal készített ábra, a populáció szintű főkomponens analízis eredményei, illetve a mitokondriális DNS vizsgálatok során kapott eredmények is megerősítenek. Feltételezhetően az *A. m. mellifera* fajta Lengyelország nyugati területei felé, addig az *A. m. carnica* fajta keleti irányban terjedt el. A fekete méh (Bydgoszcz, Wroclaw) hazai krajnai pannon méhünktől való

nagyobb távolságértéke megerősíti számunkra, hogy Lengyelország nyugati területeinek méhészeiben valóban az *A. m. mellifera* fajta uralkodó, így kontrollként való alkalmazása indokolt. Az AMOVA teszt és a páronkénti F_{ST} értékek összehasonlításakor nagyon hasonló eredményeket kaptunk (5 és 6. táblázat).

5. táblázat: Páronként F_{ST} értékek (átló alatt) és Nei-féle korrigált sztenderd genetikai távolság (D_s) (átló felett)

	Magyarország	Libéria	Spanyolország	Bydgoszcz	Krakkow	Bialowieza	Wroclaw	Siedlice	Buckfast	Olaszország
Magyarország	-	1,263	1,809	0,550	0,082	0,236	0,441	0,130	0,257	0,144
Libéria	0,216	-	0,958	1,021	1,095	0,941	1,039	1,030	1,455	1,384
Spanyolország	0,291	0,157	-	0,341	0,886	0,632	0,412	0,797	1,249	1,558
Bydgoszcz	0,167	0,154	0,092	-	0,235	0,186	0,174	0,242	0,539	0,651
Krakkow	0,029	0,148	0,189	0,063	-	0,130	0,243	0,072	0,197	0,161
Bialowieza	0,084	0,132	0,146	0,047	0,025	-	0,082	0,062	0,173	0,196
Wroclaw	0,136	0,146	0,110	0,032	0,049	0,001	-	0,050	0,296	0,385
Siedlice	0,045	0,135	0,167	0,058	0,003	0,001	-0,007	-	0,176	0,151
Buckfast	0,097	0,205	0,273	0,153	0,057	0,051	0,095	0,054	-	0,164
Olaszország	0,060	0,212	0,298	0,183	0,053	0,066	0,126	0,051	0,064	-

6. táblázat: A vizsgált populációk közötti AMOVA teszt eredményei (1000 futtatás)

ns - nem szignifikáns, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

(%)	Magyarország	Libéria	Spanyolország	Bydgoszcz	Krakkow	Bialowieza	Wroclaw	Siedlice	Buckfast	Olaszország
Magyarország	-	***	***	***	***	***	***	***	***	***
Libéria	34%	-	***	***	***	***	***	***	***	***
Spanyolország	46%	27%	-	***	***	***	***	***	***	***
Bydgoszcz	27%	22%	27%	-	***	**	*	**	***	***
Krakkow	12%	21%	34%	12%	-	ns	**	ns	***	***
Bialowieza	16%	22%	30%	10%	2%	-	ns	ns	*	***
Wroclaw	30%	25%	36%	8%	10%	4%	-	ns	*	***
Siedlice	14%	21%	31%	9%	3%	2%	3%	-	*	**
Buckfast	22%	31%	49%	19%	10%	6%	13%	7%	-	***
Olaszország	18%	35%	49%	29%	12%	9%	30%	15%	18%	-

A 7. táblázatban bemutatott illeszkedés vizsgálat megmutatja, hogy a feltételezett populációkba az egyedek hány százaléka tartozik bele ténylegesen. Az eredmények alapján megállapítottuk, hogy a magyar populációk alapvetően homogénnek tekinthetők (93,6%), viszont kismértékben megfigyelhető idegen fajtákra jellemző gének megjelenése. Hazánkban kimutathatóak a Buckfast vonal egyedei (1,7%), az olasz méh (*A. m. ligustica*) (2,5%) és a fekete méh Lengyelországból (*A. m. mellifera*) (2,1%). Megállapítható, hogy a Libériából származó egyedek valóban az *A. m. adansonii* fajtához tartoznak, emiatt kiváló kontrollnak bizonyultak. Mindez a Spanyolországból érkező *A. m. iberica* fajtáról is elmondható.

7. táblázat: „Assignment teszt”, illeszkedés vizsgálat eredményei

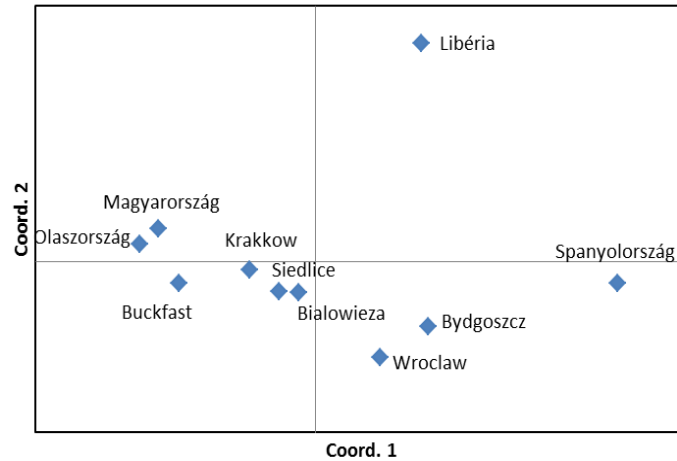
(%)	Magyaro.	Libéria	Spanyolo.	Lengyelo.	Buckfast	Olaszo.
Magyaroro.	93,6	0	0	2,1	1,7	2,5
Libéria	0	100	0	0	0	0
Spanyolo.	0	0	100	0	0	0
Lengyelo.	12,1	0	0	80,3	4,5	3
Buckfast	0	0	0	10	90	0
Olaszo.	20	0	0	0	0	80

A 8. táblázat azt mutatja meg, hogy hány egyed tartozik bele ténylegesen az általunk feltételezett populációkba. A távolságértékek eredményeit jól alátámasztja, hogy a magyar populációkban a krajnai jellegűnek tartott siedlicei, krakkowi és bialowiezai egyedek génkészlete jelenik meg, míg Wroclawból csupán egy egyed, mely az *A. m. mellifera* fajtához tartozik. Megállapítható tehát, hogy a fekete méh jelenléte hazánkban elhanyagolhatónak tekinthető. Emellett öt olasz méhegyed, és három buckfast vonalhoz tartozó egyed szintén kimutatható a magyar állományokban. A táblázatban piros színnel emeltük ki a krajnai jelleget mutató egyedeket és késsel a fekete méh jelleget mutató egyedeket. A táblázatból kitűnik a lengyel populációk nagyfokú heterogenitása, melyre jellemző, hogy az ország nyugati területének méhpopulációi *A. m. mellifera*, míg keleti részének méhészetek feltehetően *A. m. carnica* jelleget mutatnak. Lengyelország keleti területein található méhészeteket alkotó méhegyedek túlnyomó többsége nem olvadt bele a magyar populációkba, ami feltehetően fajtán belüli különbségre utal.

A főkomponens analízis eredményei alapján az afrikai és a spanyol populációk jelentős távolsága figyelhető meg a magyar méhészetektől.

8. táblázat: „Assignment test”, illeszkedés vizsgálat eredményei egyedi szinten
 (Jelmagyarázat: IT-Olaszország, BU-Buckfast vonal, SI-Lengyelország/Siedlice, WR-Lengyelország/Wroclaw, BW-Lengyelország/Bialowieza, KR-Lengyelország/Krakkow, BY-Lengyelország/Bydgoszcz, SP-Spanyolország, AF-Libéria, HU-Magyarország)

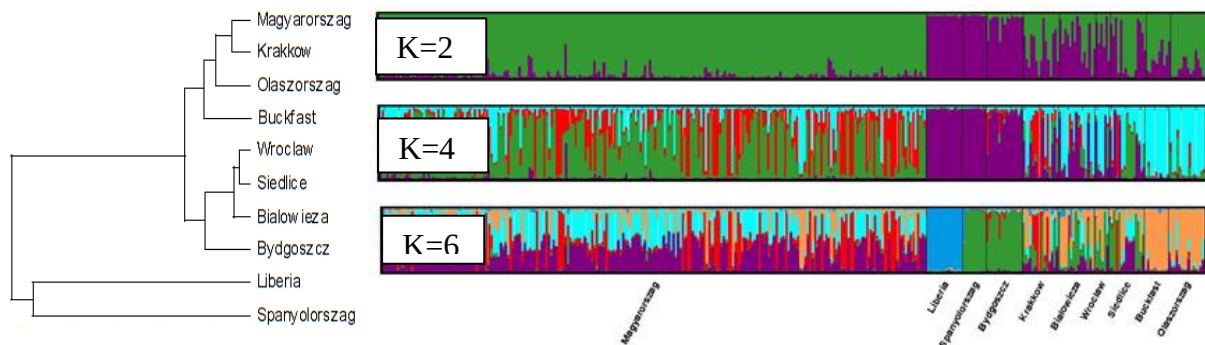
(egyed)	HU	AF	SP	BY	KR	BW	SI	WR	BU	IT	Egyedszám (N)	Nem populációba illő egyedek	Nem populációba illő egyedek (%)
Magyarország	201	0	0	0	8	4	14	1	3	5	236	35	14,8
Libéria	0	15	0	0	0	0	0	0	0	0	15	0	0
Spanyolország	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0
Bydgoszcz	0	0	1	11	2	0	1	0	0	0	15	4	26,6
Krakkow	3	0	0	1	5	2	4	0	0	0	15	10	66,6
Bialowieza	0	0	0	2	2	3	5	1	1	1	15	12	80
Siedlice	4	0	0	1	1	2	2	2	2	1	15	13	86,6
Wroclaw	0	0	0	0	0	0	1	5	0	0	6	1	16,6
Buckfast	0	0	0	0	0	0	2	0	8	0	10	2	20
Olaszország	3	0	0	0	0	0	1	0	0	11	15	4	26,6



4. ábra: Főkomponens analízis a vizsgált tíz mézelőméh-populációra vonatkozóan

A magyar populációkhoz legközelebb az olasz és a buckfast populációk álltak. A korábbi eredményekkel összhangban genetikailag a magyar méhészetekhez viszonylag közel helyezkedik el Krakkow, Siedlice és Bialowieza méhészetei, így ismét igazoltuk, hogy az említett populációk jelentős mértékben hordozhatják a krajnai fajtára jellemző géneket (4. ábra).

A mézelőméh-populációk klaszteranalízise során (5. ábra) azt tapasztaltuk, hogy a magyar krajnai pannon méh már a $K=2$ csoportosításnál elvált a Libériából, Spanyolországból és a lengyel Bydgoszcz településről származó fajtáktól. A spanyol *A. m. iberica* fajta, valamint a bydgoszczi *A. m. mellifera* fajta az UPGMA filogenetikai fán is közel helyezkedik el egymáshoz, melyet a két fajta közös, „M” származási vonalhoz tartozása indokol. A $K=3$ csoportosítást követően a Buckfast és Olasz populációk váltak el a többi állománytól. Az említett két populáció közelsége a filogenetikai fán szintén megfigyelhető. A következőkben ($K=6$) a libériai *A. m. adansonii* fajta elkülönülése látható a spanyol *A. m. iberica* valamint a Bydgoszczból származó *A. m. mellifera* fajtáktól. A további futtatások során a program nem tudott különbséget tenni az egyes populációkat alkotó fajták között.



5. ábra: A vizsgált mézelőméh-populációk klaszteranalízise (K -csoportok száma), Nei-féle korrigált sztenderd genetikai távolság (D_s) alapján szerkesztett UPGMA filogenetikai fa

3.3. Fajtajelleg vizsgálat eredményei

A magyar méhészetek fajtajelleg vizsgálata során három - a méhtenyésztők ellenőrzésében alkalmazott – paraméter értékeit, valamint az irodalom alapján alkalmasnak vélt K19-es szög értékét vételeztük fel.

Az 9. táblázatban félkövéren emeltük ki a minimum és maximum értékeket a méhcsaládok átlagában, valamint egyedi szinten.

A kubitális index az egyes méhészetek méhcsaládjainak átlaga szerint 3,06, valamint 2,51 érték között alakult. Egyedi szinten a magyar méhpopulációk egészére vonatkozóan a legkisebb kubitális index 1,53, míg a legnagyobb 4,50 értéket mutatott.

A szipóka hossza országos átlagban 6,6 mm, mely érték a méhcsaládok átlagai alapján 6,490 mm és 6,705 mm között alakult. Egyedi szinten a szipóka hossz értékeiben 4,48 mm és 7,00 mm közötti értékeket detektáltunk. A Magyarországon alkalmazott fajtasztenderd 6,5 mm és 6,8 mm között határozza meg a krajnai pannon méh szipókahosszát. Bizonyítottuk, hogy e paraméter vonatkozásában a magyar méhcsaládok országos átlagban, valamint a méhcsaládok átlaga alapján egyaránt a krajnai pannon méhhez tartoznak. Mind a kubitális index, mind a szipóka hosszának értékei alapján alacsony szórást mutattunk ki (9. táblázat).

A K19-es szög paraméterének felvétele során tapasztaltuk a legnagyobb szórást, viszont a családok átlagértéke 77,61 valamint 80,07 határok között alakult.

Az eredmények tükrében a vártakkal ellentétben nem az Olaszországhoz közelebb eső nyugati területekre, hanem az ország középső, keleti és délkeleti részére jellemző az olasz *A. m. ligustica* fajta megjelenése.

Eredményeink alapján igazoltuk, hogy szín esetében három méhészet, kubitális index alapján egy anyanevelő méhészet nem felelt meg a fajtasztenderdnek. Összességében a 16 méhészetből 4 méhészet tenyésztésből való kizárása indokolt lenne. Emellett eredményeink alapján bizonyítottuk, hogy a magyar mézelőméh-populációkban kis mértékben jelen van az olasz fajta.

9. táblázat: A vizsgált négy fajtajelleg vizsgálati paraméter átlag valamint minimum és maximum értékei a megfigyelt 16 magyar méhészetben

Méhészet	Kubitális index	Min./Max.	Szipóka hossza (mm)	Min./Max.	Szín megfelelő (%)	K19	Min./Max.
1.	2,51±0,43	1,53/4,13	6,628± 0,117	6,30/6,90	100	78,37±2,82	70,49/84,70
2.	2,80±0,39	1,93/ 4,50	6,600± 0,110	6,30/6,80	40	77,61±2,44	71,81/82,57
3.	2,78±0,33	2,00/3,58	6,705± 0,111	6,50/ 7,00	100	79,40±2,51	72,72/89,68
4.	2,74±0,43	1,81/3,81	6,538± 0,127	6,10/6,80	20	78,24±2,85	71,16/ 89,90
5.	2,57±0,34	1,93/3,65	6,490± 0,182	4,48/6,82	60	78,18±2,34	71,14/83,73
6.	2,61±0,31	1,96/3,59	6,640± 0,118	6,30/ 7,00	60	77,61±2,55	71,28/83,30
7.	2,74±0,35	1,88/3,82	6,629± 0,090	6,40/6,90	100	78,55±2,28	72,87/83,96
8.	2,63±0,34	1,82/3,53	6,587± 0,119	6,30/6,88	100	79,10±2,61	73,91/84,70
9.	2,72±0,36	1,86/3,94	6,580± 0,128	6,38/6,98	60	78,32±2,80	73,09/84,47
10.	2,72±0,33	1,71/3,47	6,604± 0,120	6,28/6,90	80	78,32±2,80	73,09/84,47
11.	2,77±0,39	1,96/3,88	6,600± 0,122	6,30/6,90	60	80,07±2,98	70,06/86,56
12.	2,84±0,49	2,00/4,40	6,596±0,110	6,30/6,80	80	77,91±2,30	71,78/82,85
13.	2,73±0,36	1,93/3,81	6,620±0,113	6,20/6,80	80	78,35±2,40	71,70/83,60
14.	2,76±0,36	1,93/4,19	6,576±0,096	6,30/6,90	0	78,95±2,42	71,89/85,10
15.	3,06±0,37	2,08/4,24	6,589±0,111	6,20/6,90	80	79,43±2,32	73,99/85,01
16.	2,72±0,36	1,94/3,80	6,625±0,099	6,40/6,90	80	78,59±2,28	72,79/83,40
Átlag (szórás)	2,73±0,37	1,89/3,89	6,600±0,117	6,19/6,88	68,75	78,56±2,54	72,11/84,87

IV. AZ ÉRTEKEZÉS ÚJ, ILLETVE ÚJSZERŰ MEGÁLLAPÍTÁSAI

1. A citokróm-oxidáz I mitokondriális régió egy meghatározott szakaszának szekvenciái által a magyar mézelőméh-populációkban hét haplotípust (Ht 2, Ht 8, Ht 9, Ht 10, Ht 11, Ht 12 és Ht 16) mutattunk ki, melyek közül a Ht 8, a Ht 11 valamint a Ht 12 újként jelent meg. Ezen kívül Spanyolországból a Ht 4, Ht 13 továbbá Ht 14, Lengyelországból pedig a Ht 5-öt, Ht 6-ot és Ht 7-et írtuk le újként. Bizonyítottuk, hogy a Magyarországon domináns Ht 9-et alkotó egyedek 8,3%-ban az *A. m. ligustica* fajtához, 7,05%-ban a Buckfast vonalhoz, valamint 1,3%-ban az *A. m. mellifera* fajtához tartoznak. Kimutattuk a Ht 9 dominanciáját Közép-Európában, melynek gyakorisága déli irányban növekszik.
2. Kilenc polimorf mikroszatellit marker alkalmazásával bizonyítottuk, hogy a magyar mézelőméh-populációk közel egységesek (93,6%), melyben 2,5%-ban az *A. m. ligustica*, 2,1%-ban az *A. m. mellifera* és 1,7%-ban a Buckfast vonal egyedei jelennek meg. A honos krajnai pannon méhen belül nagyfokú heterozigotizást állapítottunk meg, ezért hazánkban a beltenyésztettség nem jellemző. A magyar méhpopulációkban hét lókuszon 23 állomány specifikus allélt mutattunk ki. Fajták közötti elkülönülést igazoltunk Lengyelország keleti és nyugati területeinek méhészeit között. Továbbá, a krajnai fajtán belüli elkülönülést állapítottunk meg a magyar populációk, illetve a lengyel krajnai jellegűnek tartott populációk között.
3. A krajnai pannon méh Magyarországon alkalmazott fajtajelleg vizsgálati paramétereinek (szín, szipóka hossza, kubitális index) értékei több mint 30 év távlatában nem változtak meg lényegesen. A kutatott méhészetek közül négy nem felelt meg a krajnai pannon méhre vonatkozó fajtasztenderdnek, ezáltal igazoltuk az *A. m. ligustica* fajta jelenlétét hazánkban. Országunk keleti, középső és délkeleti részére jellemző az olasz fajta megjelenése.
4. A molekuláris genetikai és fajtajelleg vizsgálatok eredményeinek összehasonlítását követően megállapítottuk, hogy a kapott eredmények nem minden esetben erősítették meg egymást, viszont három méhészetben (2, 4 és 14) mindkét módszer alkalmazásával kimutatható az olasz fajta jelenléte.

V. AZ EREDMÉNYEK GYAKORLATI HASZNOSÍTHATÓSÁGA

Mind molekuláris genetikai, mind fajtajelleg vizsgálatokkal megállapítottuk, hogy a magyar méhpopulációk jelentős részét a honos krajnai pannon méh alkotja. A hazai méhállományok megőrzése érdekében elengedhetetlen a populációk genetikai szerkezetének ismerete. A munkánk során kimutatott ritka allélok, a hazai méhpopulációkban megjelenő kismértékű idegen génhatás, valamint a beltenyésztettségre utaló jelek hiányának ismerete hozzájárul a klasszikus tenyésztési eljárások kialakításához, így módon eredményeink átültethetőek lesznek a gyakorlat számára is.

VI. PUBLIKÁCIÓK AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN

Tudományos közlemény idegen nyelvű, lektorált folyóiratban:

1. **Zakar E.-Jávor A.-Kusza Sz.:** 2014. Genetic bases of tolerance to *Varroa destructor* in honey bees. *Insectes Sociaux*. ISSN 0020-1812. (2012. IF: 1,331) (in press)

Tudományos közlemények magyar nyelvű, lektorált folyóiratban:

1. **Péntek-Zakar E.-Jávor A.-Kusza Sz.:** 2014. A mézhozam és a mézelő méh (*Apis mellifera* L.) morfológiai bélyegei közötti összefüggések vizsgálata. Irodalmi áttekintés. *Agrártudományi Közlemények*. ISSN 1587-1282. (in press)
2. **Zakar E.-Zajác E.-Rácz T.-Oláh J.-Jávor A.-Kusza Sz.:** 2013. A hazai mézelő méh (*Apis mellifera* L.) populációk fajtajelleg vizsgálata. *Agrártudományi Közlemények*. 2013. 51: 59-63. ISSN 1587-1282.
3. **Zakar E.-Oláh J.-Jávor A.-Kusza Sz.:** 2012. Mikroszatellit markerek felhasználása a házi méhek (*Apis mellifera* L.) kutatásában. Irodalmi összefoglaló. *Állattenyésztés és Takarmányozás*. 61. 1: 37-46. ISSN 0230-1814.
4. **Zakar E.-Oláh J.-Jávor A.-Kusza Sz.:** 2012. A hazai mézelő méh (*Apis mellifera* L.) populációk genetikai távolságbecslésének vizsgálata. Előzetes közlemény. *Agrártudományi Közlemények*. 2012. 48: 61-64. ISSN 1587-1282.
5. **Zakar E.-Oláh J.-Jávor A.-Kusza Sz.:** 2011. Az ALH, HR78 és ND gének expressziójának változása atkafertőzöttség (*Varroa destructor* Oud.) hatására mézelő méhben (*Apis mellifera* L.). *Állattenyésztés és Takarmányozás*. 60. 1: 55-63. ISSN 0230-1814.

Ismeretterjesztő publikációk:

1. **Zakar E.-Oláh J.-Kusza Sz.:** 2013. A fajtajelleg vizsgálat története Világviszonylatban I. *Méhészet*. 61. 9: 10-11. ISSN 0465-6016.
2. **Zakar E.-Oláh J.-Kusza Sz.:** 2013. A fajtajelleg vizsgálat története Világviszonylatban II. *Méhészet*. 61. 10: 10-11. ISSN 0465-6016.
3. **Péntek-Zakar E.-Zajác E.-Rácz T.-Oláh J.-Kusza Sz.:** 2013. Fajtajelleg vizsgálat eredményei Magyarországon. *Méhészet*. 62. 1: 6-7. ISSN 0465-6016.

4. **Zakar E.-Oláh J.-Kusza Sz.:** 2010. Az ázsiai nagy méhatka. *Méhészet*. 58. 10: 3. ISSN 0465-6016.

Konferenciák:

Idegen nyelvű absztrakt:

1. **Zakar E.-Zajác E.-Rácz T.-Oláh J.-Jávor A.-Kusza Sz.:** 2013. Morphometric study of Hungarian honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies. The 3rd Central European Section Meeting of the International Union for the Study of Social Insects. 2013. szeptember 14-18. Kolozsvár. Románia. 51.

Magyar nyelvű nem lektorált konferencia kiadvány:

1. **Zakar E.-Oláh J.-Jávor A.-Kusza Sz.:** 2011. Magyarországi házi méh populációk (*Apis mellifera* L.) genetikai távolságbecslése morfológiai adatok és mikroszatellit markerek alapján. I. AG-Biotech Debrecen Konferencia. Debrecen. 9.

A kutatási témához közvetlenül nem kapcsolódó publikációk:

1. **Tanács L.-Körmöczy L.-Zakar E.:** 2011. A Duna-Tisza közti homoki sztyepprétek vadméh-közösségének hosszú távú változásai. *Natura Somogyiensis*. 2011. 19: 201-222. ISSN 1587-1908.
2. **Tanács L.-Bereczkiné K. E.-Mészáros A.-Zakar E.:** 2011. Viráglátogató vadméh (*Hymenoptera, Apoidea*) közösség értékelése faunisztikai és szinbiológiai szempontok szerint Kisbugac-pusztán 2006-2008 között. *Agrár- és Vidékfejlesztési Szemle*. 6. 2: 222-233. ISSN 1788-5345.

Idegen nyelvű poszter:

1. **Szabó Gy.-Horváth R.-Zakar E.-Kozák L.-Lengyel Sz.:** 2010. The effect of grassland restoration on bee communities – a preliminary study in Hortobágy National Park, Hungary. Seventh International Congress of Hymenopterists in Kőszeg, Hungary.