



MAGYAR AGRÁR- ÉS  
ÉLETTUDOMÁNYI EGYETEM

**A HAZAI MÉZELŐ MÉHEKET BETEGÍTŐ  
*NOSEMA* FAJOK ELŐFORDULÁSÁNAK  
VIZSGÁLATA, ÉS KIMUTATÁSI MÓDSZERÉNEK  
FEJLESZTÉSE**

Doktori értekezés

DOI: 10.54598/002330

Csáki Tamás

Gödöllő

2022

## **A doktori iskola**

**megnevezése:** Állatbiotechnológiai és Állattudományi Doktori Iskola

**tudományága:** Mezőgazdaság-tudomány

**vezetője:** Dr. Mézes Miklós  
egyetemi tanár, az MTA rendes tagja  
Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Élettani és  
Takarmányozástani Intézet, Takarmánybiztonsági Tanszék

**Témavezetők:** Dr. Heltai Miklós  
egyetemi tanár, DSc  
Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem,  
Vadgazdálkodási és Természetvédelmi Intézet

Dr. Békési László Szabolcs  
PhD, habil.  
Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem,

---

Az iskolavezető jóváhagyása

---

A témavezetők jóváhagyása

# Tartalomjegyzék

1	Bevezetés.....	4
1.1	A téma aktualitása, jelentősége.....	5
1.2	A kutatás megalapozása.....	8
1.3	Célkitűzések.....	10
2	Irodalmi áttekintés, alapfogalmak.....	11
2.1	Egészség és betegség.....	11
2.1.1	Paraziták okozta betegségek.....	12
2.2	A méhek immunitása.....	12
2.3	Nosemosis (nozéma, noszéma, noszéma-betegség, gyomorvész).....	13
2.3.1	Kórokozó.....	13
2.3.2	Kórfejlődés.....	14
2.3.3	Tünetek.....	14
2.3.4	Kórjelzés.....	15
2.3.5	A parazita terjedése.....	17
2.3.6	Gyógykezelés.....	19
3	Saját vizsgálatok.....	21
3.1	Anyag és módszer.....	21
3.1.1	Archív, konzervált minták gyűjtése.....	21
3.1.2	Szabadföldi mintavétel 2010-ben.....	21
3.1.3	Mintafeldolgozás a „CAR”-ban.....	23
3.1.4	Minta feldolgozás a „RET”-ben.....	26
3.1.5	A spóraszám és fertőzött méhek arányának számolása.....	28
3.1.6	Fertőzöttségi kategóriák és kockázati szintek meghatározása.....	29
3.1.7	Statisztikai elemzés.....	30
3.2	Eredmények.....	31
3.2.1	Archív, konzervált minták retrospektív vizsgálati eredménye.....	31
3.2.2	A 2010-ben gyűjtött méhminták vizsgálati eredményei.....	31
3.2.1	A kijáró méhek és a benti dolgozó méhminták összehasonlítása.....	35
3.3	Új tudományos eredmények.....	37
4	Következtetések és javaslatok.....	37
4.1	Az eredmények értékelése.....	37
5	Összefoglalás.....	41
6	Summary.....	42
7	Irodalomjegyzék.....	43
8	Mellékletek.....	53
	A mérések eredménytáblái.....	53
9	Köszönetnyilvánítás.....	63

## Jelölések, rövidítések jegyzéke

- CAR: Centro Apicola Regional, Marchamalo
- COLOSS: Prevention of honey bee COlony LOSSes– <http://www.coloss.org>
- CTAB: Cetil-trimetil-ammónium-bromid
- GMO: Genetically Modified Organisms
- KÁTKI: Gödöllői Kisállattenyésztési Kutatóintézet
- LDPE: Low Density Polyethylen
- NBGK: Nemzeti Biodiverzitás- és Génmegőrzési Központ  
<http://genmegorzes.hu/>
- OMME: Országos Magyar Méhészeti Egyesület – <http://www.omme.hu>
- PCR: polymerase chain reaction, polimeráz-láncreakció
- RET: Szent István Egyetem Gödöllői Regionális Egyetemi Tudásközpont

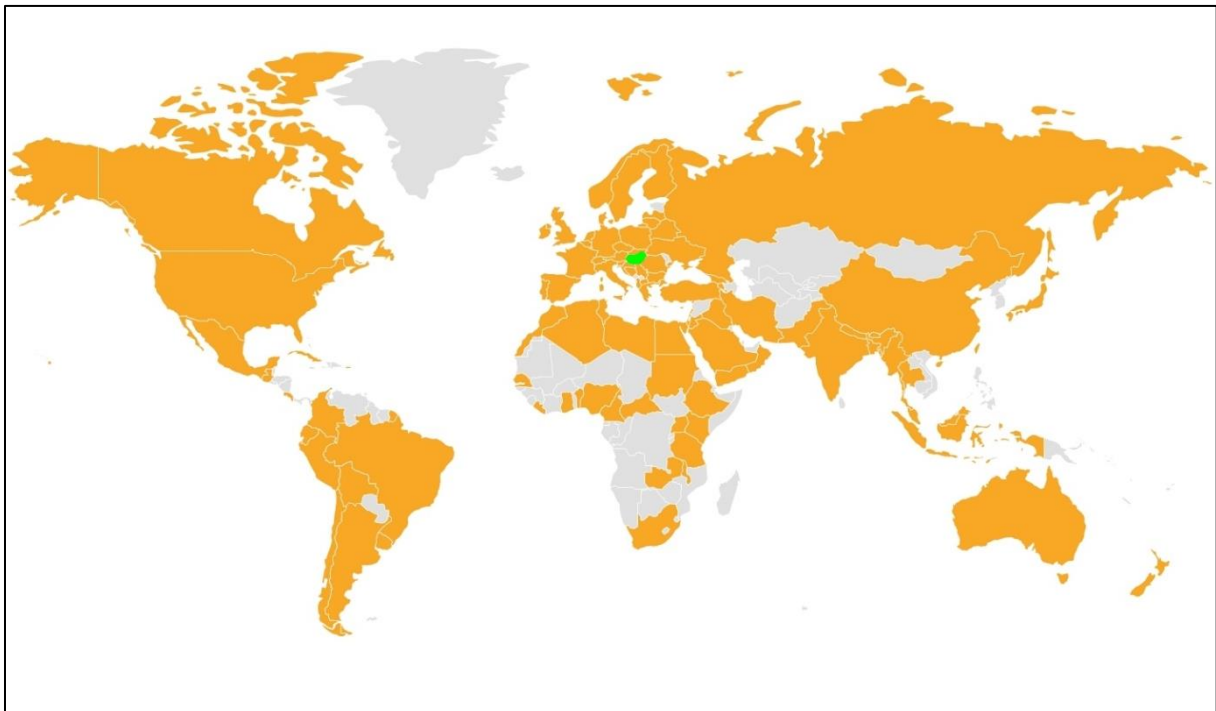
# 1 Bevezetés

A "megpróbálni és tévedni" egy egyszerű módszer, mellyel az ember a történelem során felfedezte, elsajátította és mind inkább kisajátítja a Világot. A gyűjtögető-vándorló életmód mellett idővel megjelent a termelés a megtelepedésre alkalmas területeken. A megtelepedett ember maga köré gyűjtötte mindazt a fontos dolgot, amit kóborlása idején megkedvelt és a velük való foglalataskodás folyamatosan fejlődött. Az évezredek alatt a foglalataskodások szakmákká fejlődtek, így kialakult a méhészet is (CRANE 2005). A méhészet az állattenyésztés különleges ágazata. A magyar méhészet a mezőgazdaság bruttó termelési értékének 1%-át, az állattenyésztésnek mintegy 3%-át adja. A méhészeti ágazat jelenleg mintegy 18 – 20 000 család megélhetéséhez nyújt kiegészítő vagy fő jövedelemforrást, így közvetve hozzájárul a vidék népességmegtartó képességéhez. Magyarország az Európai Unió harmadik legnagyobb méztermelője, a hazai méhészetek körülbelül 1,2 millió méhcsaládot tartanak. Az EU-ban évente átlagosan megtermelt 250 ezer tonna mézből Magyarország közel 10 százalékkal részesedik. Egy átlagos évben határainkon belül 25-28 ezer tonna mézet termelünk, az éves méztermelés az elmúlt tíz évben az időjárás és az egyéb körülmények függvényében 15 és 30 ezer tonna között alakult országunkban. A méhészetek beporzási tevékenysége az egyik egyértelmű példája az ökoszisztéma szolgáltatásoknak, mely közvetlenül realizálódik a rovarbeporzású haszonnövényeink terméshozamában és mennyiségében. Az ökoszisztémában betöltött nélkülözhetetlen szerepük miatt mindannyiunk számára fontos a mézelő méhek egészségének megőrzése (TANTÓ és CZERVÁN 2016). A méhek élete sokkal jobban függ a természetes környezettől, illeszkedik az ökológiai gazdálkodáshoz, mint a többi gazdasági haszonállat, nem csupán élelmiszer előállító „funkciójával”, hanem közvetett hasznán, a megporzáson keresztül is. Mint minden élőlényt, a méheket is fenyegetik különböző kórokozók, melyek parazita életmódjukkal betegséget okozhatnak. Méhész berkekben a parazita fogalma kapcsán elsősorban a varroosist okozó varroa atka (*Varroa destructor*, ANDERSON és TRUEMAN, 2000) merül fel. A fertőzöttség könnyű megállapítása – az atka szabad szemmel is észrevehető –, látványos kórfejlődése és tünete miatt a méhek más parazitáival kapcsolatos ismereteket és figyelmet elterelte. Így az érdeklődés elől alattomosan elbújva, napjainkra a nyugati mézelő méhek (*Apis mellifera*, LINNAEUS, 1758) egyik legfontosabb parazitás betegsége a nosemosis a világon már csaknem mindenütt jelen van (BOTÍAS és mtsai. 2012a).

## 1.1 A téma aktualitása, jelentősége

A mézelő méh házasítása mintegy 6000 évvel ezelőtt kezdődött, és a selyemlepke mellett az egyetlen korán házasított rovarfaj. A méhészet ma is sok ember megélhetését teremti meg hazánkban és világszerte egyaránt. A méhészetben főként mézet, de ezen kívül propoliszt, méhviaszt, méhmérget, pollent és méhpempőt termelnek, illetve tenyészállatokat is előállítanak a méhészek (ÖRÖSI 1957). A méhek világszerte fontos ökológiai és gazdasági szerepet játszanak, mint sok természetett és vadon élő növény beporzói (BRADBEAR 2009; MBURU és mtsai. 2006). A mérsékelt égövben az összes virágos növény 78%-a kötődik rovarmegporzáshoz (OLLERTON és mtsai. 2011). A legfontosabb kultúrnövényeink több, mint 80 százaléka teljes mértékben állati megporzástól függ (KLEIN és mtsai. 2007). Ezen növényfajok közé olyan gazdaságilag fontos kultúrák tartoznak, mint az alma, szamóca, mandula, paradicsom és dinnyefélék. Az agrárszektorban világszinten a megporzás gazdasági haszna becslések szerint 153 milliárd euró évente, ami a mezőgazdaság teljes bevételének közel tíz százaléka (GALLAI és mtsai. 2009). A méhek azért nevezhetők a leghatékonyabb megporzóknak, mert a kifejlett állatok nem csak saját maguk táplálkoznak pollennel és nektárral, hanem utódaikat, lárváikat is ezzel etetik. Így sokkal több virágot keresnek fel, mint más viráglátogatók, és a pollen gyűjtésére specializálódott testükön sokkal hatékonyabban is viszik át a virágport egyik növényről a másikra (PFIFFNER és MULLER 2007). A jelenlegi mezőgazdasági gyakorlatok, mint például a nagyszabású monokultúra, bizonyos földrajzi területeken a méhek szezonális bőségét igénylik, ahol nincs elegendő természetes beporzó populáció. Ezekben a helyeken a vándorméhészetek biztosítják a megfelelő számú beporzót. (DEPLANE és mtsai. 2000). Az élelmiszeripar, gyógyszeripar és vegyipar is hasznosítja a méhcsaládok által létrehozott termékeket, mint a mézet, propoliszt, viaszt, méhpempőt valamint a méhmérget (SZALAINÉ MÁTRAY 2002). Mindezek következtében megőrzésük szükségesszerű a bioszféra természetes rendszerében, hiányuk beláthatatlan következményekkel járna az élővilágra, többek között az Európai Unióban élő mintegy félmillió főállású és hobbi tevékenységet folytató méhészt is érintené (PÉNTÉK-ZAKAR 2014). Az élelmiszertermelés a természettel elsődlegesen érintkező szakmája a mezőgazdaság és azon belül is jelenleg a növénytermesztés. A biztosabb megélhetés, a költségek csökkentése és a biztonságosabb termelésre hivatkozva a technológiai növényvédelmet felváltotta a kémiai növényvédelem és GMO megjelenésével a genetikai növényvédelem. Az utóbbiak hatása az élelmiszerlánc többi tagjaira ismeretlen, egy folyamatos felfedezés. Az élelmiszerlánc elején elhelyezkedő mézelő méheink közvetlenül érintkeznek és fogyasztják az évmillióig ismeretlen molekulákat és

géneket tartalmazó nektárt és virágport. A környezeti feltételekhez képest „csúcsra járatott” termelési intenzitás a méhészetben is megfigyelhető. A méhsűrűség növekedése és a távolságok zsugorodása miatt újabb és újabb méhegészségügyi kihívásokra kell megoldást találni (KRISTÓF és mtsai. 2008). Az elmúlt két évtizedben a méhészeti ágazatban a méhveszteségek világszerte és a sokszorosukra emelkedtek az azt megelőző időszakhoz képest. A veszteségeket kiváltó okokat nem tisztázták, de feltételezik, hogy többtényezős folyamatok eredménye. 2007-től kezdődően a probléma világszerte fokozott nyilvánosságot kapott. A korai vizsgálati eredmények értékeléseként a jelenséget Colony Collaps Disorder (CCD) „méhcsaládok összeomlása kórképnek” nevezték el, amit nálunk az elnéptelenedő családokra utalva, kaptárelhagyásnak hívunk (BÉKÉSI 2008). A COLOSS COST Action elnevezésű nemzetközi együttműködési program 2008-ban indult a méhcsaládpusztulások okainak feltárására. A program a méhészeti ágazatban érintett méhészek, kutatók és szakmaközi szervezetek között épített ki kapcsolati hálót. A program egyik legsikeresebb tevékenysége a megalakulása óta évente végzett méh-pusztulásokat felmérő interaktív kérdőív működtetése. A felmérések szervezésében és a beérkezett adatok feldolgozásában 2010-től 2018-ig Magyarország is részt vett (CSÁKI 2012; GRAY és mtsai. 2019). Az együttműködési program indulása óta nemzetközi tudományos szervezetté fejlődött és ma COLOSS Association néven működik, jelenleg több, mint 102 országból és 1511 taggal, köztük 5 magyar aktív taggal (1. ábra).



**1. ábra:** A kétezres évek elején a méhcsaládpusztulások kivizsgálásával indult és mára világszervezetté bővült COLOSS Association tagállamai, köztük Magyarország is tag (zölddel jelölve).

A nemzetközi együttműködésben számos módszerfejlesztés született. Az in-vitro zárkás modellvizsgálatok módszerfejlesztésében Magyarország is részt vett (HUANG és mtsai. 2014). A tudományos szervezet egyik kézzel fogható terméke a BEEBOOK I-II-III. néven kiadott diagnosztikai kézikönyv sorozat. A BEEBOOK II. méhek kártevőivel és betegségeivel foglalkozó kézikönyv írásában és szerkesztésben Magyarország is részt vett (WILLIAMS és mtsai. 2013).

A méhek a legtöbb haszonállattal ellentétben a mozgásterükben nem szoríthatók fizikai korlátok közé. Eltávolással, rablással, vagy csupán közös virágot látogatva érintkeznek egymással a különböző méhcsaládokból származó egyedek. Európában dobogós helyen szereplő méhsűrűségünk miatt gyakorlatilag minden méhészet ki van téve a nosemosisnak. A nosemosis kialakulásának az esélyét jelentősen növelik a gyengítő tényezők, mint például a pollenhiány, az enyhe mérgezések, a varroa atka és az atkairtás, a vírusok jelenléte (BAKONYI és mtsai. 2002; BERÉNYI és mtsai. 2007; FORGÁCH és mtsai. 2008), a méhészeti technológiai stressz (TESOVNIK és mtsai. 2020).

Ez a betegség beavatkozás nélkül elhatalmasodhat, és jelentős gazdasági kárt okozhat. A méhészet jelen kihívásai közé tartozik a nosemosis okszerű kezelése, aminek az alapja a gyors, és a fertőzöttség súlyosságát kimutató kórjelzés. Sok esetben maga a betegség megjelenéséből következtethet a méhész a gyengítő tényezők jelenlétére, ezért is nagyon fontos a betegség kialakulásának korai stádiumban való felismerése (BÉKÉSI 2012).

A méhész termelői közösség kiemelkedő összetartása és önszerveződése folytán a harmincas években az Országos Magyar Méhészeti egyesület kezdeményezésével kialakult a magyar méhegészségügyet ellenőrző rendszer. Név szerint ez volt a világ szerte példaként emlegetett Körzeti Ellenőri Rendszer. Ezt a rendszert ma a NÉBIH és a Kormányhivatal bevonásával a méhegészségügyi felelősök rendszerének ismerjük. A mostani rendszer szerint a méhegészségügyi felelőst a területileg illetékes hatósági állatorvos felügyeli, és szerencsére az Állatorvosi Egyetemen a méhet, mint haszonállatfajt, sok év kihagyás után a közelmúltban újra oktatják. Mindezek mellett általános elvárás bármelyik méhésztől a jártasság a termelési gyakorlati ismeretek mellett a méhtartás egészségügyi kérdéseiben is. Ehhez szükség van lehetőleg a gyakorlatban alkalmazható, a lehető legkevesebb műszerparkot igénylő, költséghatékony vizsgálati módszerek fejlesztésére és terjesztésére.

A méhészetben alkalmazott konvencionális szerek döntő többségét az atkairtó szerek alkotják. Az egyik leggyakrabban használt hatóanyag az amitráz, amelynek rendszeres használata mellett jellemzően a nosema fertőzöttség is felerősödik (WU és mtsai. 2012). 2013-tól kezdődően az Ökológiai Mezőgazdasági Kutatóintézet és 18 termelő méhész összefogásával



megalakult a méhészeti on-farm hálózat. A hálózat fő tevékenysége a közösségi szerepvállaláson alapuló alkalmazott méhészeti kutatás és módszerfejlesztés, valamint a gyakorlati tapasztalatokból származó tudásmegosztás (CSÁKI 2015a). A hálózat fő kutatási területe a kémiai és technológiai stressz csökkentése a méhészetben. A ma már 160 aktív taggal működő hálózat egyik legnagyobb eredménye a méhészeti ágazat számára, hogy elterjesztette Magyarországon az oxálsav termelésben is alkalmazható szublimáltatásos és tartóshordozós atka gyérítési technológiát (CSÁKI 2016a; b). A hálózat az ökológiai méhészet számára egy technológiai és egy méhegészségügyi szakmai kiadványt is publikált (CSÁKI 2015b; c).

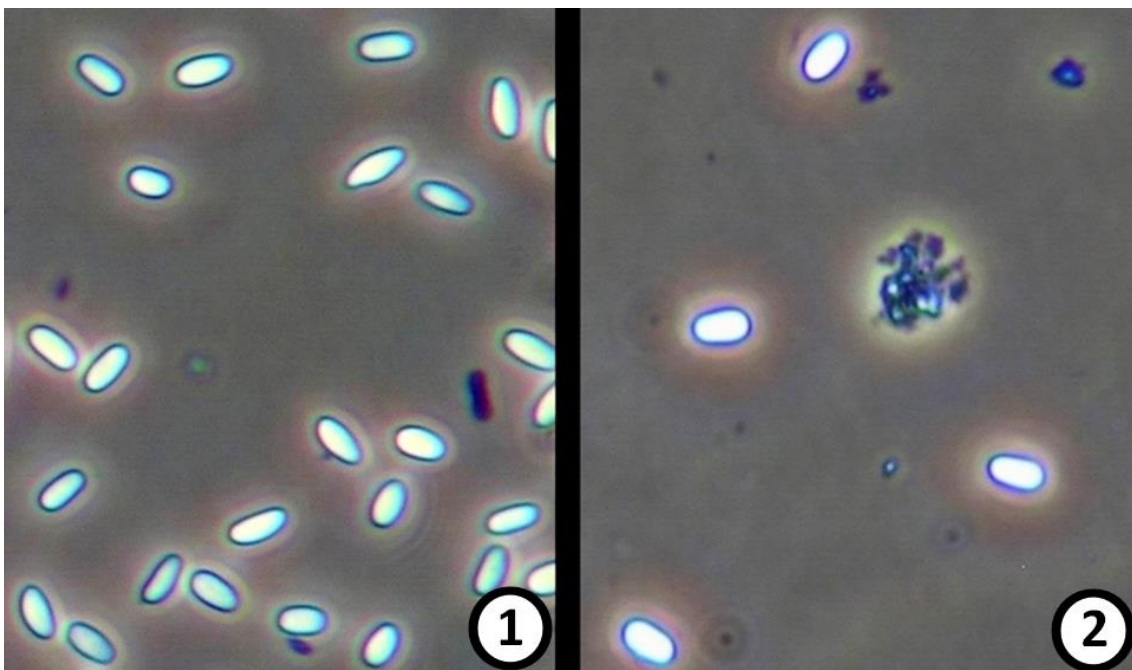
## 1.2 A kutatás megalapozása

Korábban úgy gondolták, hogy a *Microsporeá*-khoz (DELPHY 1936) tartozó két egysejtű faj közül a *Nosema apis* (ZANDER 1909) csak a nyugati mézelő méheket, a *Nosema ceranae* (FRIES és mtsai. 1996) csak a keleti mézelő méheket, az *Apis cerana*-t, (FABRICIUS és mtsai. 1792) fertőzi. Közel száz éven keresztül a tavasszal jelentkező, majd a nyár folyamán rendszerint spontán megszűnő dizentéria kórképpel (barna ürülékpöttyök a keretléceken, lépeken és a kijárónyílásokon) hozták párhuzamba a nosemosist (BAILEY 1955; BAILEY 1967). A kétezres évek elejére egyre több méhészet számolt be nyári állománygyengülésről, de az évszakos ciklikusság és a klasszikus tünetek hiányában nem gyanakodtak a noszémásságra. Azonban, a közelmúltban sorra születtek jelentések arról, hogy a *Nosema ceranae* a nyugati mézelő méheket is fertőzi (CHAUZAT és mtsai. 2007; CHEN és mtsai. 2008; DAINAT és mtsai. 2012; FRIES és mtsai. 2006; GIERSCH és mtsai. 2009; HIGES és mtsai. 2006; HUANG és mtsai. 2007; INVERNIZZI és mtsai. 2009; KLEE és mtsai. 2007; NABIAN és mtsai. 2011; PAXTON J. és mtsai. 2007; STEVANOVIC és mtsai. 2011; TAPASZTI és mtsai. 2009; WILLIAMS és mtsai. 2008b). Járványtani szempontból kimutatták, hogy a *Nosema apis* és a *Nosema ceranae* fertőzés tünete és kórtana eltérő képet mutat (HIGES és mtsai. 2010). 2009-ben a guadalajarai COLOSS workshopon elfogadták a javaslatot, hogy betegséget a kórokozó faj függvényében megkülönböztessék (HIGES és mtsai. 2009): *Nosema apis* esetén „A” típusú, *Nosema ceranae* esetén „C” típusú nosemosisról beszélünk. Az „A” típusú nosemosis idült állapota jellemzően tavasszal, a hordás beindulása előtt mutatkozik, ami a dizentéria mellett a kaptár közelében „mászkáló” röpképtelen, vagy már elhullott méhek és a vontatott fejlődés tünete. A „C” típusú nosemosis esetében egyértelmű klinikai tünetek nem mutatkoznak, a spanyolországi feljegyzések szerint előfordulásának nincs szezonálitása, és a kezeletlenül hagyott családok idővel összeomlanak (MARTÍN-HERNÁNDEZ és mtsai. 2007; HIGES és

mtsai 2008; HIGES és mtsai 2009; HIGES és mtsai 2010). Azonban a németországi felmérés nem mutatta ki a *Nosema ceranae* folytonos betegítését (GISDER és mtsai 2010).

A *Nosema ceranae* magyarországi jelenlétét először TAPASZTI és munkatársai (2009) mutatták ki. A 2007-ben gyűjtött 38 *Nosema* fertőzött méhminta közül PCR-RFLP módszerrel 37 méhminta esetében csak a *Nosema ceranae*-t mutatták ki. CHEN és munkatársai (2008) az 1995-ben gyűjtött Amerikai Egyesült Államokbeli méhmintákból, PAXTON és munkatársai (2007) 1998-ban gyűjtött finnországi méhmintákból mutatták ki, hogy a *Nosema ceranae* a nyugati mézész méheket fertőzi. A méhcsalád szintjén a nosenosis súlyosságának megállapításához hagyományosan a méh egyedekre számolt átlag spóraszám számítását használták (FURGALA és HYSER, 1969), ami később egyben a *Nosema apis* fertőzés kimutatási eljárása is lett. FINGLER és munkatársai (1982) vizsgálata szerint méhmintán belül a fertőzött méh egyedek százalékos aránya korrelál a méh egyedekre számolt átlag spóraszámával.

A spanyolországi vizsgálatok (HIGES és mtsai 2008b; MEANA és mtsai 2010) a *Nosema ceranae* esetében nem igazolták a közvetlen összefüggést a méhegyedekre számolt átlag spóraszám és a méhcsalád fertőzöttségi szintje között. A két *Nosema* faj spóráját a szokványos mikroszkópos alaktani vizsgálat alapján szinte lehetetlen megkülönböztetni (FRIES 1997). Az egyértelmű megkülönböztetéshez molekuláris vizsgálat szükséges, viszont az költséges, különösen a DNS állomány kinyerése a rendkívül ellenálló spóra alakból kereskedelmi kett és az azt kiszolgáló automatizált technológia nélkül (HIGES és mtsai 2009a) (2. ábra).



2. ábra: *Nosema ceranae* (1) és *Nosema apis* (2) spórák 400x nagyítású fáziskontraszt mikroszkópon.

### 1.3 Célkitűzések

Munkám átfogó céljaul mézelő méhek nosemosisát okozó *Nosema* fajok magyarországi területi és szezonális előfordulásának vizsgálatát határoztam meg, valamint a fertőzés diagnosztikájának fejlesztését, megkülönböztetett figyelmet fordítva a termelő méhészetek körében rendszeresen megfogalmazódó alábbi hipotéziseknek:

1. A feltételezés szerint a *Nosema ceranae* Magyarországon 2007-nél korábbi időszakban is jelen volt. Célkitűzésem 2007-nél korábban gyűjtött, mikroszkópos vizsgálat alapján *Nosema spp.* pozitív méhminták fertőzési típusának meghatározása PCR vizsgálattal.
2. A feltételezés szerint az Európán belül közölt független, egymásnak ellentmondó eredmények alapján a *Nosema* fajok közül a *Nosema ceranae* az elterjedtebb. Célkitűzésem a *Nosema* fajok magyarországi elfordulásának vizsgálata több időszakban és nagy területen végzett mintagyűjtés feldolgozásával.
3. A feltételezés szerint ugyanazon méhcsalád esetében a benti és a kijáró méheket megkülönböztető mintavételezés alapján *Nosema* fajokkal kapcsolatos minta feldolgozási módszerek eredménye eltér. Célkitűzésem a nosemosis diagnosztikájában olyan gyakorlati módszer fejlesztése, amivel pontosabban lehet meghatározni a fertőzöttséget méhcsalád szinten, figyelembe véve a mintagyűjtés módszerét is.
4. A feltételezés szerint a *Nosema* fajok kimutatásához és fertőzési típusuk megkülönböztetéséhez alkalmazott molekuláris vizsgálat a kereskedelmi kitt és az azt kiszolgáló automatizált technológia nélkül is kivitelezhető. Célkitűzésem a fertőzési típusok megkülönböztetéséhez alkalmazott triplex PCR vizsgálat teljesítése kereskedelmi kitt és az azt kiszolgáló automatizált technológia nélkül.

Munkámmal a fenti hipotézisek vizsgálatán túl célom az is, hogy a kapott eredményeket értékelve ajánlásokat fogalmazzak meg a betegség kialakulásának korai stádiumban való felismerése, megítélése és kezelése érdekében a *Nosema* fajokkal kapcsolatos mintagyűjtési és minta feldolgozási módszerekre, illetve a molekuláris vizsgálati módszer egyszerűsítésére és gazdaságosabbá tételére.

## 2 Irodalmi áttekintés, alapfogalmak

### 2.1 Egészség és betegség

Az élő szervezet működése bizonyos határok között megszabott rendben zajlik és a szervezet igyekszik a környezetével szemben külső és belső egyensúlyát fenntartani. A belső egyensúlyi állapotot homeosztázisnak, a külső környezethez való alkalmazkodást akklimatizációnak nevezzük. Az egészség egy dinamikus állapot, a működését jellemzi az előbbi két tényezőkön kívül még a szervezet ellenálló képessége a kedvezőtlen hatásokkal szemben, amit rezisztenciának nevezünk (COOPER 2008).

Ha a szervezet normális működésében dinamikus zavar keletkezik, ennek látható jele a tünet. A tünetek összességét betegségnek nevezzük. A szervezet megbetegedését okozó élő struktúra a kórokozó. Ha a kórokozó a szervezetbe jutva, ott megfelelően elszaporodva mindenképpen betegséget idéz elő, akkor feltétlen kórokozóról beszélünk. Ezzel szemben a feltételes kórokozó csak akkor tud elszaporodni, és csak akkor okoz betegséget, ha a szervezet ellenállóképessége is csökken és a gyengült szervezet már nem tud megfelelően védekezni. Fertőzésről akkor beszélünk, ha egy kórokozó bejut egy gazdaszervezetbe, vagyis annak határán átjutott. A szervezet határa nem minden esetben jelenti ugyanazt. A légcsőatka (*Acarapis woodi*, RENNIE 1921) a méh légcsővébe jutva már a szervezet határán belül van (FAIN 1970), azonban a *nosema* spóra a méh középbélének lumenébe jutva még nem fertőzte a méh egyedet, mert még át kell jutnia a középbél emésztőhártyáján, és maganyagát be kell juttatnia a középbél hámsajtjeibe. Fertőző betegség esetén a betegség egyedről egyedre terjed. A méhészetben a betegséget elsősorban nem egyedszinten, hanem méhcsalád szinten értelmezzük. A betegség korlátozódhat néhány méhcsaládra vagy máskor rohamos terjedése nagyon sok méhcsaládot érint (BAILEY 1967).

Járvány vagy *epidemia* esetén a fertőző betegség egy meghatározott területen, rövid időn belül sok méhcsaládnál jelentkezik. Endémia esetén a járvány rendszeres előfordulása meghatározható helyhez kötődik. Az adott időpontban, illetve időszakban egy adott populációt érintő betegség előfordulási gyakoriságát prevalenciának nevezzük. A betegség kialakulását segíti a hajlamosság. A hajlamosság lehet genetikai adottság, ilyenkor az adott méhcsalád érzékeny valamilyen kórokozóra. Továbbá vannak hajlamosító tényezők is, például a rossz tartási, takarmányozási körülmények miatt legyengült méhcsaládot megbetegíti az egyébként nem veszélyes kórokozó. A betegség lefolyása fertőzést követően még két szakaszra bontható. A lappangás szakasza a fertőzéstől az első tünetekig eltelt idő. Az az idő, amíg a kórokozó

megtelepedik, elkezd szaporodni vagy eljut végleges helyére. A kóros állapot szakasza az első érzékelhető tünetek megjelenésével kezdődik és a további alakulását a kórokozó szaporodása, életképessége és a gazdaszervezet védekező ereje határozza meg. Ha a védekező erő kerekedik felül és a kórokozó leküzdése után újra kialakul a normális egyensúly, akkor a szervezet meggyógyul. Ha a szervezet nem tudja kiküszöbölni a kórokozót, de áldozatul sem esik a fertőzésnek, akkor egy rendellenes, de viszonylag stabil állapot alakul ki, amit idült formának nevezünk. Ha alulmarad a szervezet a kórokozóval szembeni küzdelemben, akkor a szervezet elpusztul. Ha az előző jelenségek gyorsan lezajlanak, akkor akut, vagy heveny lefolyásúnak nevezzük, ha elhúzódnak, akkor krónikusnak nevezzük (VARGA és mtsai 1999).

### **2.1.1 Paraziták okozta betegségek**

A parazita vagy élősködő egy másik faj, a gazdafaj testében vagy testfelszínén él, és annak testéből táplálkozik. Az élősködő az életciklusának jelentős részét a gazdaegyeden (gazdaegyedben) éli, abból táplálkozik, csökkenti annak túlélési és szaporodási esélyeit (tehát virulens), esetleg tünetekkel jellemezhető betegséget is okozhat (tehát patogén is lehet) (POULIN 2007).

## **2.2 A méhek immunitása**

A rovarok nem képesek a gerincesekhez hasonló, magasabb szintű immunválaszra, nem rendelkeznek immunmemóriával sem. A fertőzések ellen védő leghatékonyabb mechanizmus maga a méh kültakarója és a bélcső belső felületét impregnáló peritrof-hártya. A fertőzésekre válaszként a kutikula, a középbél és a tracheák rendszerével kialakított fiziológiai védőfallok tudják gátolni a kórokozók elszaporodását. Az ezen a védőfalon átjutott fertőzésre vannak belső immun-mechanizmusok. A rovarok immunrendszere is anatómiailag meghatározó szervecskékből és keringő szabad sejtekből áll. A gerincesek májához hasonló működésű, a szervezetben zajló különféle bioszintézis folyamatok helye a kitinváz minden szegmensének belső felületén, zsírszerű sejthalmazként található zsírtestek összessége. Az immunitás alapelemét, a saját és idegen test felismerést a sejtes elemek és a hemolimfában keringő védő faktorok, ezenkívül sejtmembránhoz kötött molekulák szabályozzák (DOUBLET és mtsai 2017; GÁBOR és mtsai 2020). A méhnek, mint szociális rovarnak is vannak védekező mechanizmusai a különféle kórokozók inváziójának megfékezésére. A mézet a hiperozmotikus tulajdonsága, sűrűsége, savassága, hidrogén peroxidáz aktivitása eltartathatóvá teszi, és meggátolja a kórokozók tovaterjedését a fiasításra (GRASSL és mtsai 2017). A méh

immunitása szempontjából a saját maga által termelt anyagok közül a rágótövi mirigy váladékának, a méhpempőnek a decén sav, glukóz-oxidáz és Royalizin tartalma a legjelentősebb. A propolisz, a méhlegelőn összegyűjtött gyantáknak, balzsamoknak és olajoknak komplex keveréke, mely antibakteriális hatású. Ismert az is, hogy a dajkaméhek előgyomrában található szelep képes kiszűrni, és a vastagbélbe juttatni a gombaspórák és baktériumok nagy részét, megakadályozva, hogy azokat a dajkaméhek a táplálékkal továbbadják az álcáknak. A méhek szociális immunitásmechanizmusaival védik a családot a baktériumos, gombás és parazitás fertőzéstől. A tisztogató hajlam biztosítja, hogy a szennyezéseket, elhalt álcákat, rovarok hulláit kihordják a méhek a méh lakásból. Azokat az anyagokat, amelyeket nem tudnak kihordani a kaptárból, azt propolisszal vonják be, ezt a jelenséget hívjuk izolálásnak vagy elhatárolásnak. A rajzási hajlam célja a szaporodás mellett a védekezés. A fiasításban, illetve a lépekben szaporodó kórokozót hátrahagyva a kirajzó méhcsalád felnőtt egyedei új, tiszta környezetben letelepedve kezdenek új életet. A nemzetközi nyelven „CCD”-ként emlegetett kaptárelhagyás során megfigyelt hátrahagyott fiasítást és méz készletet a szociális „rovar-állam” mechanizmusával magyarázták, amelyben a méhcsalád a betegség továbbterjedését hárítja el (BÉKÉSI 2005).

## **2.3 Nosemosis (nozéma, noszéma, noszéma-betegség, gyomorvész)**

### **2.3.1 Kórokozó**

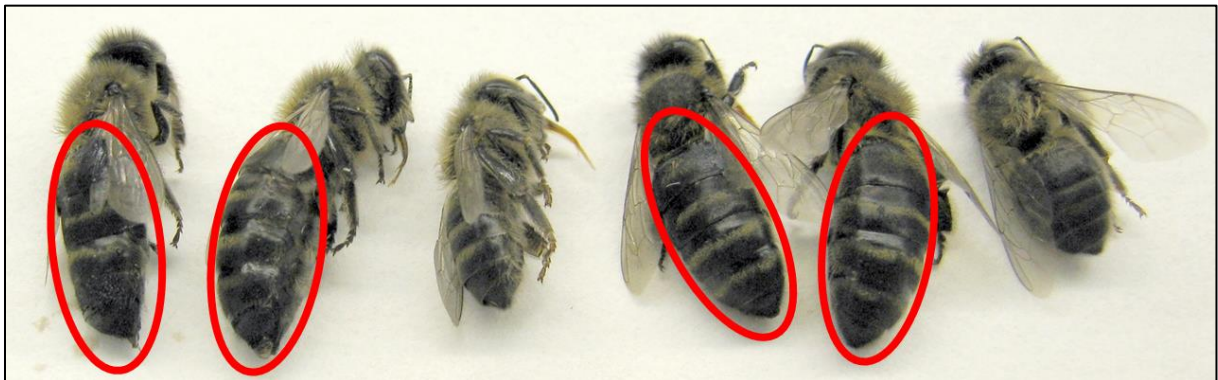
A Microsporeákhoz tartozó, a méheket megbetegíteni képes (LARSSON 1999) két faj közül a *Nosema apis*-t először ENOCH ZANDER (1909) írta le, és sokáig a méhek egyedüli kórokozójának vélték. 1996-ban INGEMAR FRIES és munkatársai leírták a keleti mézelő méhben egy hasonló fajt, a *Nosema ceranae*-t. A felfedezésekor úgy tartották, hogy *Nosema ceranae* csak a gazdaállat természetes élőhelyén, csak Ázsiában fordul elő (FRIES 1997), azonban HIGES és munkatársai (2006) Spanyolországban megtalálták a nyugati mézelő méheken is. Az újabban a gombákhoz sorolt mindkét egysejtű parazita kifejlett méhek középbél-hámsejtjein élősöködik, a jellegzetes felépítésű, 5x7 mikrométer nagyságú spóráik is ott képződnek. In vitro körülmények között végzett kísérletekkel alátámasztották, hogy a *Nosema ceranae* patogénebb a *Nosema apis*-nál. Ennek egyik oka lehet, hogy a középbélhámsejtekből kiszabaduló spórák még a fertőzött méh saját bélcsatornájában képesek fertőzni ugyanazt a gazdaszervezetet (HIGES és mtsai 2007).

### 2.3.2 Kórfejlődés

A kifejlett méhek tisztogató munkájuk során nyelik le a fertőző alakot, a spórákat, amelyek a középbélben felnyílva, kétmagvú csíráikat a kicsapódó poláris filamentum csatornáján keresztül injektálják a középbél-hámsejtbe. A gazdasejtben 5-10 nap alatt az amőboid csíraplazmából megsokszorozódás útján többszörös átalakulással alakulnak ki a spórák, közben a gazdasejt tartalékjait felélik, ennek következtében a gazdasejt elpusztul. A spórákkal megtelt elpusztult középbél-hámsejtek középbél-falból leválva a bélcsatornán keresztül a béltartalommal kiürülnek. Méhegyedenként akár több tízmillió spóra is képződhet. A spórák a beszáradt ürülékben egy évig is fertőzőképesek maradnak (FRIES 1997).

### 2.3.3 Tünetek

A fertőzött méhek klinikai tüneteket alig mutatnak. A fertőzöttség következménye az ürülékanyag fokozott teltsége, ettől a méhek potroha duzzadtnak tűnik (3. ábra).



3. ábra: A *Nosema* fertőzöttség következménye az ürülékanyag fokozott teltsége, a duzzadt potroh.

a *Nosema apis* esetében gyakran hasmenéses tüneteket mutatkoznak. A kétezres évek előtt a klasszikus nosemosis tünetek az úgynevezett dizentéria, a tavasszal megjelenő barna ürülékpöttyök a kijárónyílásokon (4. ábra), súlyosabb esetben a keretléceken, lépeken (5. ábra).



4. ábra: Hasmenéses tünetek a kijárókon. (Fotó: Tóth Péter)

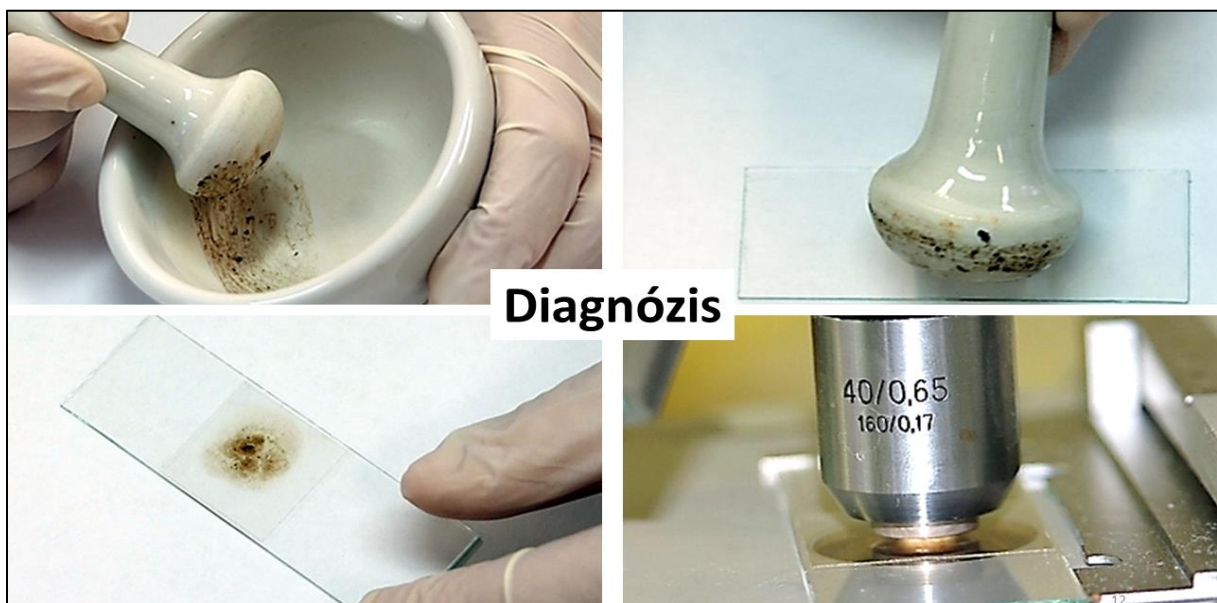


5. ábra: Jellegzetes "egyforintos" alakú ürülék pöttyök a felső keretléceken (1), tipikus *Nosema spp.* foltok a kereten (2), elhatalmasodott hasmenéses tünetek a lépen (3). (Fotó: Tóth Péter)

Ekkor a gyengébb *Nosema apis* fertőzés tünetei a nyár kezdetével rendszerint spontán megszűntek. Erősebb fertőzés esetén, ha a méhcsalád egyedei tömegesen megbetegednek, a fiasítás dajkálást hamarabb abbahagyják, a család népessége megcsappan, és ezáltal a családok méztermelő képessége is csökken (MALONE és mtsai 1995). A *Nosema ceranae* fertőzés okozta nosemosis esetében egyértelmű klinikai tünetek nem mutatkoznak, és nincs szezonálitása (FRIES, 2009; GOBLIRSCH, 2018). A betegség elhatalmasodását segíti, ha a kijárársra, tisztuló repülésre alkalmatlan időjárás elhúzódik (RETSCHNIG és mtsai 2017). A növényvédőszer felhalmozódása szintén kedvez a betegség kialakulásának (TESOVNIK és mtsai 2020).

### 2.3.4 Kórjelzés

A méhegyedek nosema fertőzöttségét hagyományosan a mikroszkópos vizsgálattal lehet igazolni, aminek során a méhek dörzsölékmintájából készült kenetet 400 x-os nagyítású biológiai mikroszkóp alatt vizsgálják (CANTWELL 1970) (6. ábra).

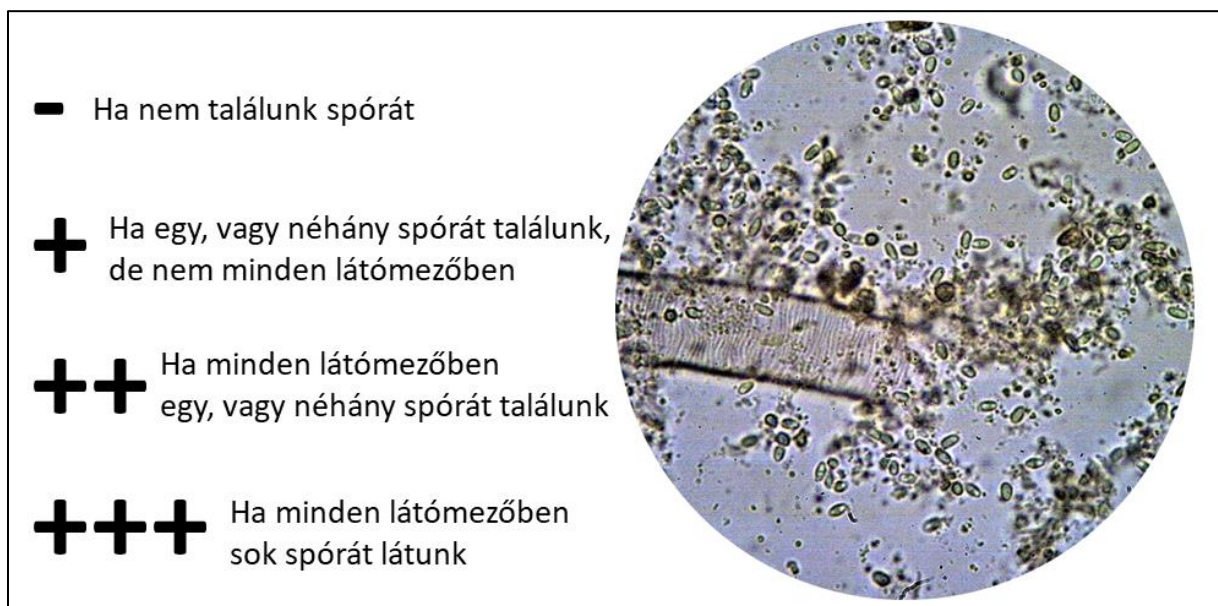


6. ábra: A dörzsölékminta elkészítése a mikroszkópos vizsgálathoz.



A pool méhminta dörzsölékek mikroszkópos vizsgálatánál a *Nosema spp.* fertőzés súlyosságát a 400 X-os nagyításnál a látóterenként talált spórák száma alapján hagyományosan kvalitatív módon egykeresztes (+), kétkeresztes (++) és háromkeresztes (+++) értéként fertőzöttségi szintekre szokták kategorizálni: „a mintában az alacsony spóraszám (+, ++) és a tünetek hiánya legfeljebb figyelmeztető lehet, ellenben, ha nagy a spóraszám (+++) és a családok gyengülését észleljük, a kezelés elkerülhetetlen” (BÉKÉSI 2012).

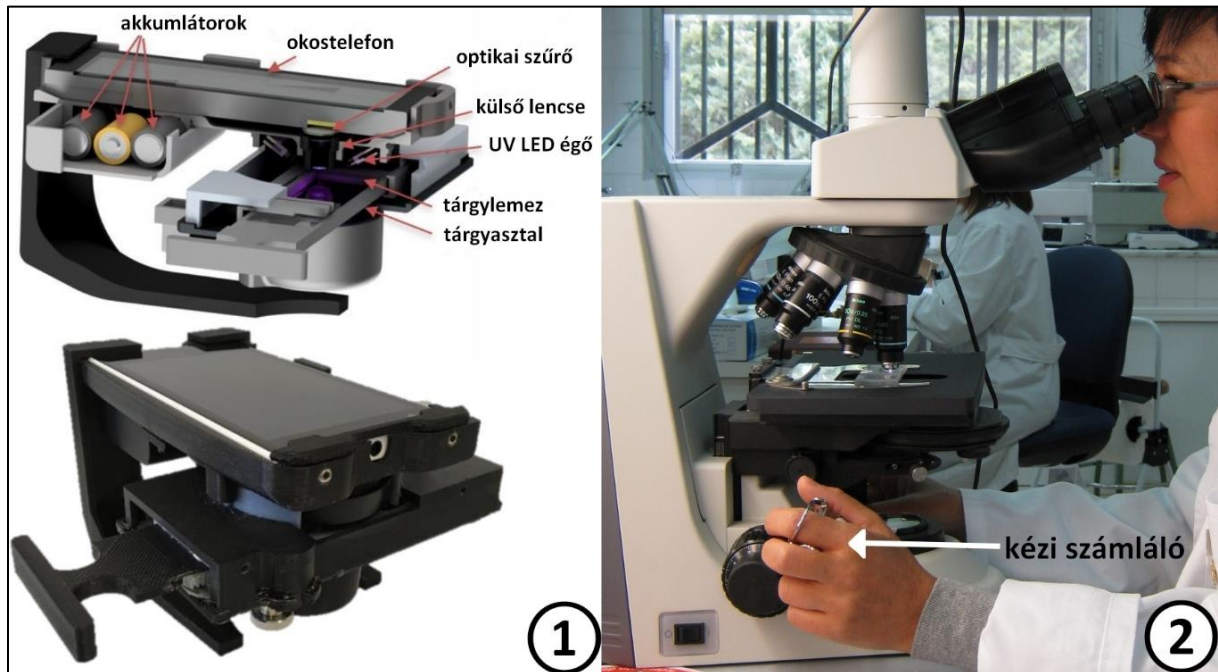
Nincsenek mindenki által elfogadott pontos számok, hogy hány spóra kell látómezőnként ahhoz, hogy az adott „keresztszámot” kapja a minta. TOPOLSKA és mtsai (2005) gyakorlatban gyorsan alkalmazható kategorizálási rendszerét a 7. ábra mutatja be.



7. ábra: A hagyományos "keresztes besorolás" a fénymikroszkóp látómezője alapján

A fertőzöttség mértékének kvantitatív meghatározásához a spóraszámolást hagyományosan haemocytometerrel végzik (OIE 2008). A módszerben a szemmel mikroszkópozás és a manuális számlálás időigényes és kimerítő, ennek kiváltására több automatizálási módszer próbálkozás merült fel. Ez egyik ilyen kiváltó módszer a Coulter számláló alkalmazása. Ennek lényege, hogy a spórákat tartalmazó diszperziót kis nyíláson szívják át, miközben elektródokon állandó intenzitású áramot vezetnek a diszperzió kapillárison elválasztott két felébe. Ha egy részecske spóra kerül a nyílásban, a keresztmetszet leszűkül, így a nyílásban lévő oldat elleállása megnő, és a részecske térfogatával arányos feszültség impulzus keletkezik. A módszer hátránya, hogy a nosema spórák és az élesztő spórák mérete megegyezik, azokat a módszer nem különbözteti meg (CRNIVEC 2016).

A *Nosema* spórák szemmel is könnyen összetéveszthetők az élesztő spórákkal, ezért célszerű fázis kontraszt mikroszkópot alkalmazni. A közelmúltban kifejlesztettek egy okostelefonnal működő egységet, amely a középéből készült kenetből képes a spórák megszámlálására (SNOW és mtsai 2019) (8. ábra).



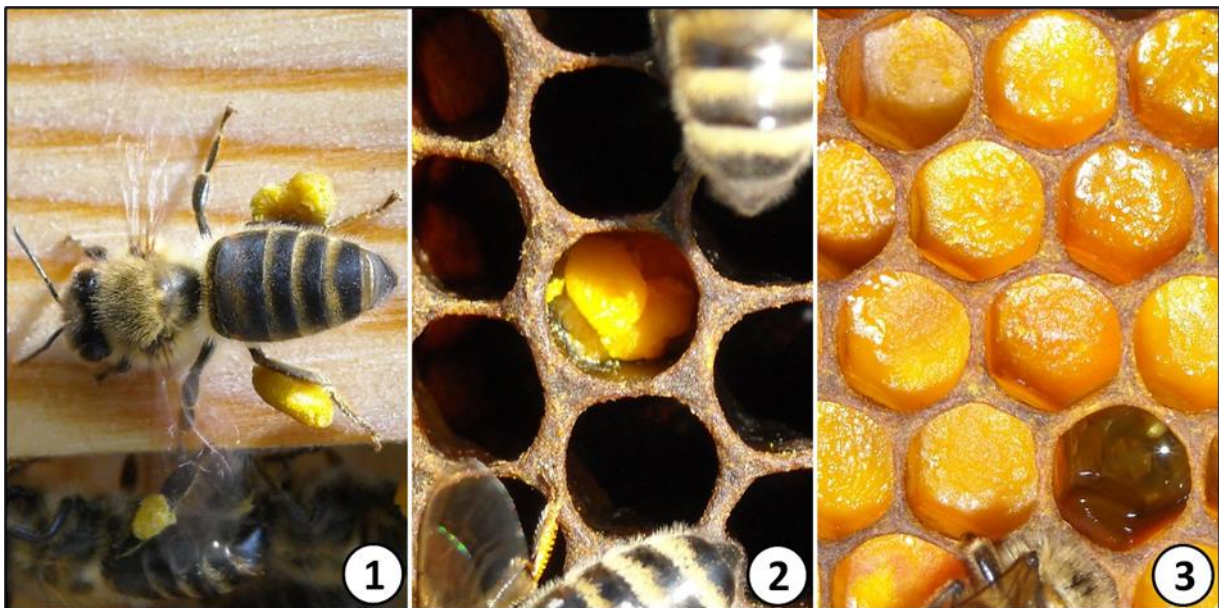
8. ábra: Okostelefonos (1) és hagyományos kéziszámlós (2) spóra számlálás. (A baloldali ábrát Jonathan Snow ábrája alapján szerkesztettem)

A fertőzést legalább méhcsalád szinten lehet értelmezni, mert a vizsgálatot élő méheken nem lehet végezni. A *Nosema apis* esetében a fertőzöttség súlyosságának megállapításához többen is összehasonlították a méh egyedekre számolt átlag spóraszám számítását és a fertőzött méhek arányát. A módszerek eredményei között mindig is nagy volt a szórás. A vizsgálatok mintafeldolgozási protokollja megegyezett, de a mintagyűjtési módszerek gyakorlatilag tanulmányonként eltértek (FRIES és mtsai 2013). A két *Nosema* faj elkülönítése a szokványos spóra alaktan alapján szinte lehetetlen, ezért a fajok elterjedésének monitorozását, a pontos azonosítást napjainkban is molekuláris vizsgálattal végzik (ÖZKIRIM és mtsai 2019, BORGES és mtsai 2020).

### 2.3.5 A parazita terjedése

A spórák horizontális terjedése kaptáron belül és kívül is megtörténhet. Jellemzően a tisztuló kirepülésre alkalmatlan időjárás idején a hasmenéses méhek a kaptáron belül ürítkeznek, és így a tisztogató méhek spórák tömegét nyelik le. A fertőzött méhek a kirepülésre

alkalmas időjárásban közvetlenül a kaptárból kirepülve ürítkeznek. Ha a méhesben az itatót helytelenül a röppálya útjában telepítik, akkor az itatót is beszennyezik a fertőzött méhek az ürülékükkel, és az itatóra járó vízfordó méhek behordják a kaptárba a fertőzést. Jellemzően ilyenkor csak a kijáró vízfordó méhek fertőződnek meg, a fertőzést nem adják tovább, mert a méh gyomorszelepének kanalazó működése a gyomortartalomból a spórákat és baktériumokat kiválogatja, és azokat a középbelebe továbbítja (IZQUIERDO és mtsai 2011). HIGES és munkatársai (2008) felfedezték, hogy a fertőzött kijáró méhekről gyűjtött korbikuláris pollenlabdacsok (9. ábra) szintén tartalmaznak fertőzőképes *Nosema ceranae* spórákat.



9. ábra: Korbikuláris pollen behordás közben (1), frissen raktározva (2) és méhkenyérre besilózva (3). (Fotók: Ollé Péter)

A behordott virágport azonban jellemzően a benti dajkaméh-generáció fogyasztja. Ez magyarázatot ad arra, hogy a *Nosema ceranae* esetében a dizentéria hiányának ellenére hogyan terjed a fertőzés az egy méhcsaládhoz tartozó idősebb méhegyedről a fiatalabb méhegyedre. A két *Nosema* faj eltérő érzékenységet mutat a hőmérsékletre, a *Nosema ceranae* jobban alkalmazkodott a magasabb hőmérsékletekhez (MALONE A. és mtsai 1995; FENOY és mtsai 2009; MARTÍN-HERNÁNDEZ és mtsai 2009). A *Nosema ceranae* spórák azonban 1 hét múlva elvesztik életképességüket  $-18\text{ °C}$  -on, és a *Nosema apis*-hoz képest érzékenyebbek az alacsony hőmérsékletre. A *Nosema apis* esetében megfigyelték, hogy a hideg évszakokban, ill.  $30\text{ °C}$  alatt szaporodik jól. Ez egy lehetséges magyarázat arra, hogy a *Nosema apis* megfigyelt elterjedése a mérsékelt éghajlatú, északi országokban gyakoribb, szemben a *Nosema ceranae*-vel, amely inkább a szubtrópusi, déli országokban fordul elő (FRIES 2009). A méhegyed

szinten a két *Nosema* virulenciája közötti különbség az éghajlat szerint is változik, a melegebb éghajlaton a *Nosema ceranae* virulensebb, mint *Nosema apis*. A *Nosema apis* esetében megfigyelhető úgynevezett nyári spontán gyógyulás egyik magyarázata az lehet, hogy a fertőzött méhek korán kijáró méhek lesznek és kint hullanak el, kikopnak a méhcsaládból (JACK és mtsai 2016).

### 2.3.6 Gyógykezelés

Az *Aspergillus fumigatus* (FRESENIUS 1863) gombafajból előállított fumagillin antibiotikum nosemák fejlődését hatékonyan gátolja (BAILEY 1953). Az antibiotikum jellegű szerek használata az élelmiszer-biztonsági kockázatuk miatt a méhészetben nem engedélyezettek. Bomlásterméke nagyon stabil, a méhészeti termékekből nagyon könnyen kimutatható. Azokban az országokban, ahol a fumagillin használata legális, ott is a magas költsége mellett további aggály, hogy szakszerűtlen alkalmazás esetén, forró cukorszörpben elkeverve percek alatt elbomlik. A hatékonyságát hosszabb ideig megőrzi, ha hideg cukorlepénybe gyúrva alkalmazzák. A fumagillin nem hat a spórákra, csak a vegetatív alakot korlátozza a fejlődésben, és azt is csak addig, amíg le nem bomlik, és nem ürül ki a méh egyed szervezetéből (WILLIAMS és mtsai 2008a). A nem antibiotikum jellegű gyógyszeres, hatóanyag alapú kezelésekre is igaz, hogy csak a vegetatív formákra hatnak, ezek közül a legnépszerűbbek a csersav tartalmú készítmények, amelyek közvetetten segíthetnek a méhcsalád kikezelésében. GAJGER és mtsai (2011) publikációjuk szerint, ami a csersav hatóanyag alapú Nozevit készítményt vizsgálta, kimutatták, hogy a csersav hatására a méhek peritrof hártájája lényegesen megvastagszik a kezeletlen méhekhez képest. A preventív és kuratív kezelés esetén is megfigyelték, hogy kezeletlen csoportokban gyorsabban elhatalmasodott a fertőzés. A Nozeviton kívül számos csersav tartalmú készítmény van a piacon, de hasonló népi megfigyelés említi a vörösboros és a lósóska kivonatos gyúrt gyogyalepényt, ami szintén a csersav hatóanyagon alapszik. A nem antibiotikum jellegű hatóanyagokkal kapcsolatban még számos ígéretes hazai és külföldi tanulmány készült (GAJGER és mtsai 2009; SZALAINÉ MÁTRAY és mtsai 2011; CHARISTOS és mtsai 2015; BORGES és mtsai 2020). HIGES javaslata szerint (személyes közlés, 2010) előnyösebb a kisebb adagokban, de tartós alkalmazás, az úgy nevezett „egyéjszakás” zacskós etetéses alkalmazás. Ennek lényege, hogy a hatóanyagot legfeljebb 250 milliliter híg cukorszörpben keverik el, buborékmentesen egy műanyagzacskóban elkötik és alkonyatkor a felső

keretlécekre helyezik. A buborékmentesség azért fontos, hogy ne durranjon el a zacskó. A legfeljebb 250 milliliter mennyiség jelentősége az, hogy ez az a mennyiség, amit egy átlagos népességű család egy éjszaka alatt elfogyaszt maradéktalanul (10. ábra). Ha a reggeli hordásig maradna még a zacskóban a készítményből, akkor azt a méhek már betárolnák, és szermaradványként megjelenhet a méhészeti termékekben. A zacskót nem kell kilukasztani, amiéhek önállóan kirágnák és szociális viselkedésükből adódóan az éjszaka folyamán a szirupot egymás között szétosztogatják, gyakorlatilag a család minden felnőtt egyedéhez eljut a hatóanyag. A méhek éjjel sem alszanak, ebben az időben a kijáró méhek is kaptár fűtésével és behordott nektár szárításával foglalkoznak. Ebből adódóan az éjszakai kezelés még ideálisabb, mert a hatóanyag a méhcsalád minden felnőttkorú generációjával érintkezik. Az ajánlás szerint négyhetes kúrát heti egy alkalmas adagolással kell végezni.



10. ábra: Zacskós etetési kezelés. Buborékmentesen elkötött zacskó a felső keretléceken (1), reggelre teljesen leszívták a méhek (2), a zacskót nem kellett kiszűrni, a méhek maguktól kirágták (3). (Fotók: Ollé Péter)

HUANG és mtsai (2020) kimutatták, hogy a *Nosema spp.* és a mézelőméh bélflórája oda-vissza kölcsönhatásban vannak. BORGES és mtsai (2021) a prebiotikumokkal végzett kísérletükben a gumiarábikummal, valamint a probiotikumokkal végzett kísérletükben a Protexin koncentrátummal szintén csökkentették a *Nosema ceranae* spóra számot.

### 3 Saját vizsgálatok

#### 3.1 Anyag és módszer

##### 3.1.1 Archív, konzervált minták gyűjtése

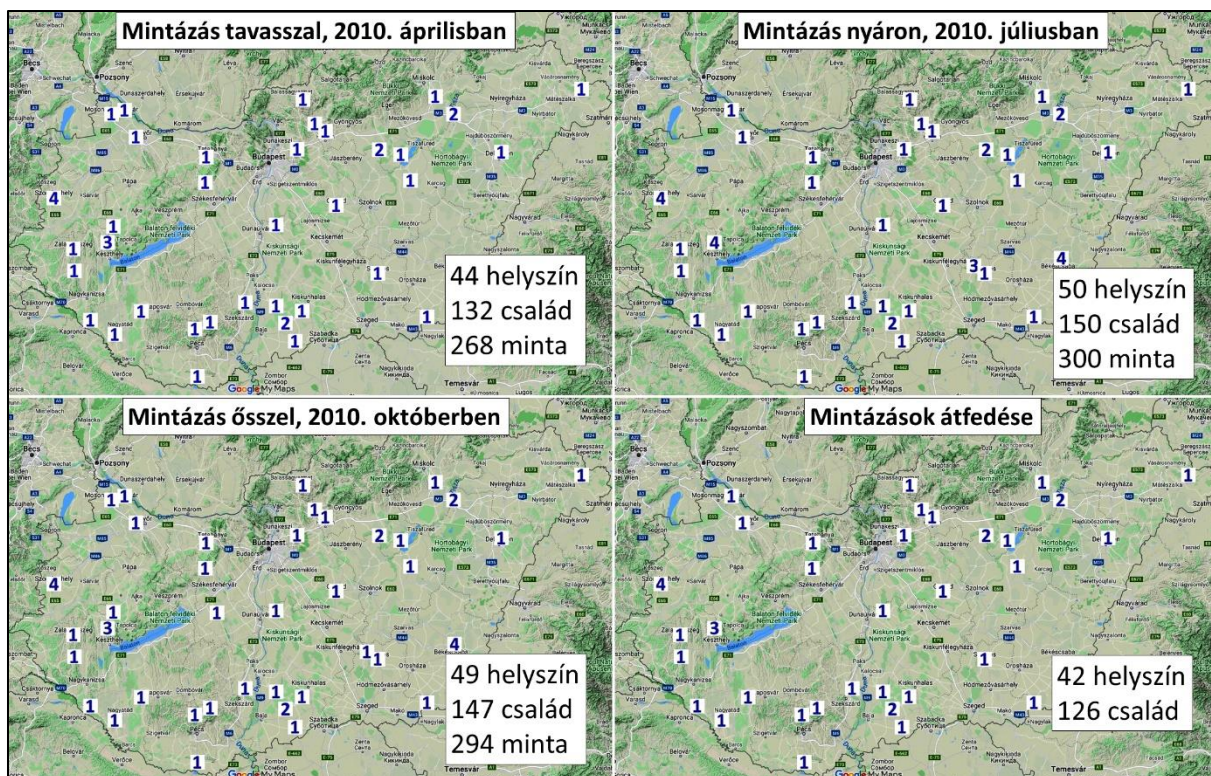
Az KATKI fagyasztott méhmintáit feltárva 2004-ből származó méhmintákat találtunk. A minták megjelölése szerint a 2004-ben végzett mintázáskor legyengült méhcsaládok kaptárjai előtt és aljdeszkjájáról méh hullákból gyűjtöttek, összesen 26 mintát. Minták 10 és 20 darab méhhullából álltak, és 11 különböző megyéből származtak (11. ábra).



11. ábra: A 2004. évből származó minták gyűjtési helyszínei.

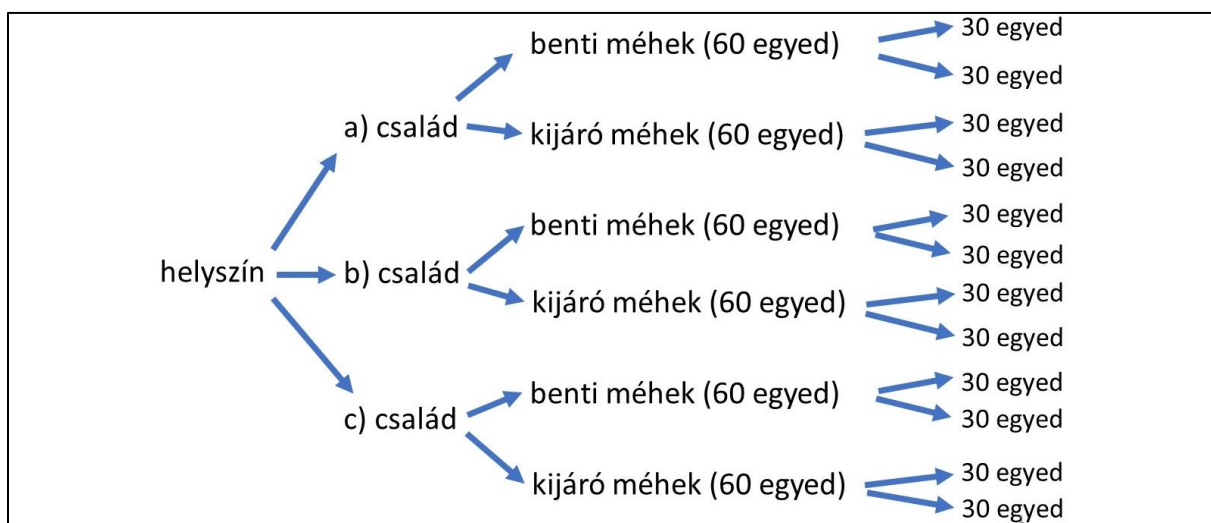
##### 3.1.2 Szabadföldi mintavétel 2010-ben

Az Országos Magyar Méhészeti Egyesület szaktanácsadói hálózata, a Gödöllői Kisállattenyésztési Kutatóintézet (ma Nemzeti Biodiverzitás- és Génmegőrzési Központ) és önkéntes méhészetek közreműködésével országos méh mintavételi kampányt szerveztünk 2010. év áprilisban, tavasszal, júliusban, nyáron és októberben, ősszel. A mintavételi kampányban arra törekedtünk, hogy *Nosema apis* és a *Nosema ceranae* prevalenciájának reprezentatív értékeléséhez a mintavételi helyszínek az ország összes fő földrajzi egységéből származzanak. A mintavételi helyszínek termelő méhészetekben voltak. A mintavételi helyszínek kiválasztása a személyes ismeretség és a méhészek részvételi hajlandósága alapján történt, ezért évszakonként a helyszínek és mintaszámok között minimális szórás volt. Az egész évben a mintázások átfedése 42 helyszín és 126 család volt (12. ábra).



12. ábra: A mintavételi helyszínek a és mintázott méhcsaládok száma 2010-ben.

Helyszínenként véletlenszerűen választottunk három-három méhcsaládot a mintázáshoz. Ezekről a méhcsaládokról kétféle méhmintát vettünk. A benti dolgozó méheket a fészekfiókok olyan szélső kereteiről szedtük, amelyek nem tartalmaztak nyitott fiasítást. A kijáró méhek mintázásához a kaptárkijárókat 20 percre bezártuk, és miután a hazatérő méhek a röpdeszán megtelepedtek, onnan söpörtük őket össze. A kijáró méhek mintázását délelőtt 9 óra előtt, vagy délután 3 óra után végeztük azért, hogy ne keveredjenek közéjük a napközben tájoló repülést végző fiatal méhek. Minden minta esetében legalább 60-60 méhegyedet gyűjtöttünk, melyeket később két-két 30 méhegyedes részre osztottunk (13. ábra).



13. ábra: A minták száma és típusa 2010.-ben.

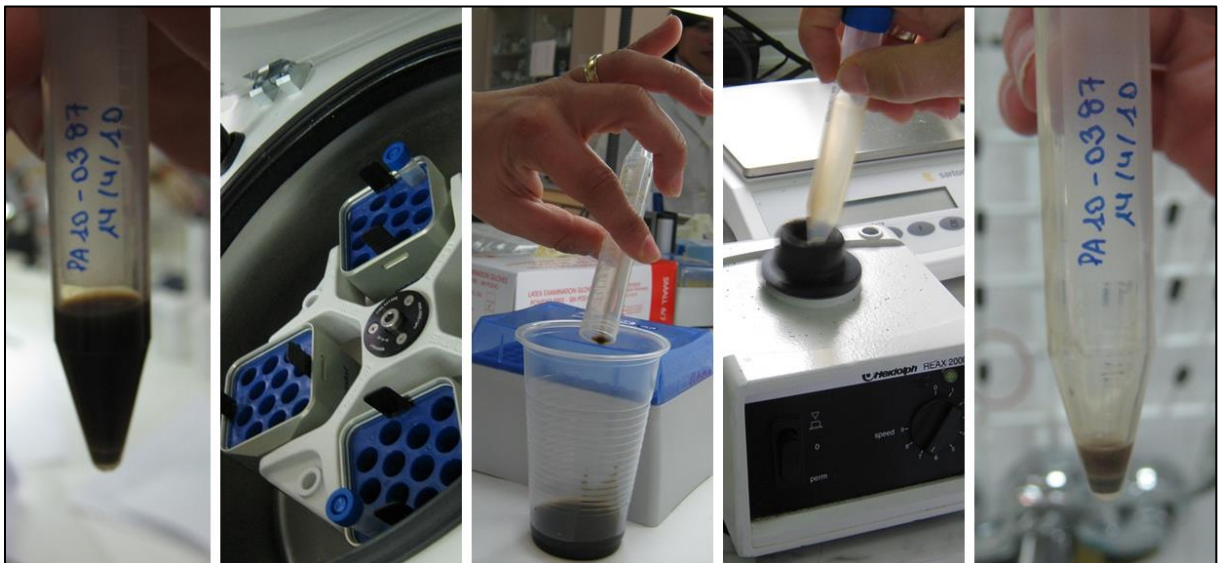
### 3.1.3 Mintafeldolgozás a „CAR”-ban

A 2010-ben tavasszal és nyáron gyűjtött méhmintákat a Spanyolországi méhészeti kutatóközpontban (Centro Apicola Regional, Marchamalo) dolgoztam fel. A spórák purifikálásához a méhmintákból egyszerre 30 egész méhegyedet BA6040/STR (Seward) típusú szűrőtásakokba helyeztem és 5 ml molekuláris biológiai minőségű H<sub>2</sub>O (MilliQ) adtam hozzá. A szűrőtásakokat Stomacher 80 Biomaster (Seward) készülékkel 2 percig a legnagyobb sebességi fokozatban roncsoltam. A tasakokban a belső háló szűrőként szolgált (14. ábra).



14. ábra: A spóra purifikálás mechanikai roncsolás fázisa, és a dörzsölék tasakos szűrése.

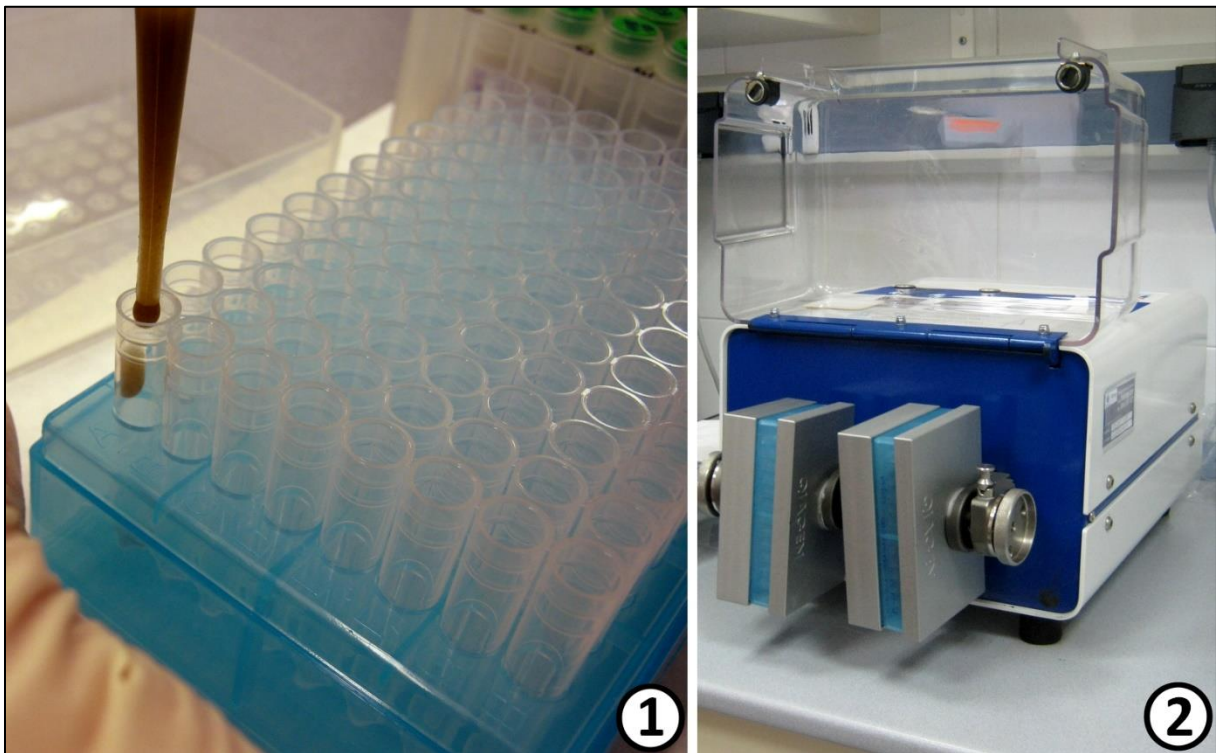
Az így megszűrt tartalmat 15 milliliteres centrifugacsövekben 6 percig 20 °C hőmérsékleten 800 x g sebességen centrifugáltam. A centrifugálást követően a csövek tartalmát dekantáltam, és a centrifugacsövek aljára letapadt pelletet 1 milliliter H<sub>2</sub>O-val 3 perc időtartamra vortex mixerrel újra szuszpendáltam (15. ábra).



15. ábra: A szűrt minták gravitációs frakcionált elválasztásának lépései.



Minden szuszpenzióból készült keneten fázis kontraszt mikroszkóppal 400 X-os nagyítás mellett az OIE (2008) útmutatás szerint ellenőriztem a *Nosema spp.* előfordulását. A *Nosema* fajok jelenlétének meghatározásához a szuszpenziókon triplex PCR analízist végeztem a QIAGEN kereskedelmi kitt és műszerpark segítségével. A spórák feltárásához TissueLyser II (Qiagen, Inc.) készüléket alkalmaztam, szuszpenzióként 150 mikrolitert mértem 96-well plate-be (Qiagen, Hilden, DE) üvegyöngyökkel (2 miniméteres, Sigma) előre töltött csövekbe, 6 percig 30 hertz fordulaton járattam. A plate utolsó csövébe vak mintának vizet töltöttem, hogy legyen negatív kontroll minta is (16. ábra).



**16. ábra:** A spóra feltárást egyszerre 96 darab mintán lehetett végezni (1), melynek első lépése a mechanikai roncsolás TissueLyserrel.

A fehérjebontáshoz a szuszpenzióhoz 30 mikroliter ATL buffert (Qiagen 19076), 20 mikroliter proteináz K-t (Qiagen 19131) mértem, és 12 óra időtartamra 56 °C hőmérsékleten inkubáltam. A DNS izoláláshoz a BS96 DNA tissue extraction protokollt futtattam az egyszerre 96 darab DNS minta izolálására alkalmas BioSprint 96 (Qiagen) készüléken (17. ábra). Az izolált DNS-t tartalmazó plate-eket -20 °C hőmérsékleten tároltam felhasználásig.

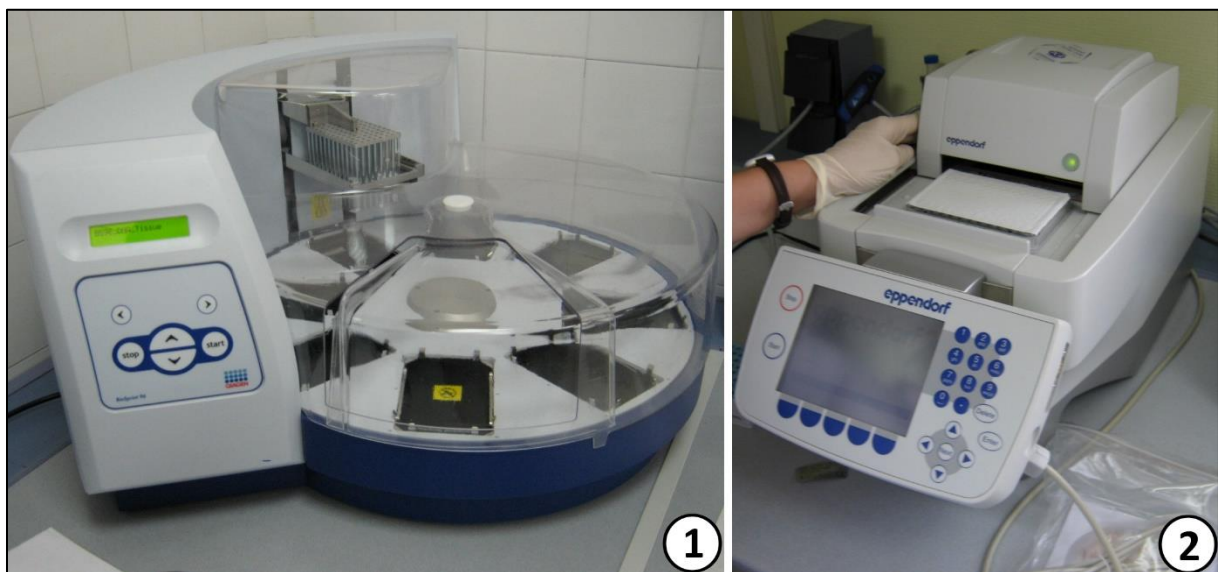
A kivont DNS-t PCR-el elemeztem a *Nosema* fajokra specifikus 218MITOC F/R és 321APIS F/R primerekkel. A vizsgálat során a nyugati mézelőméh DNS citokróm c-oxidáz

(COI) génjének előfordulását ellenőrizve állítottam be a pozitív kontrollt a fajra specifikus 118COI F/R primerekkel (MARTÍN-HERNÁNDEZ és mtsai 2007) (1. táblázat).

**1. táblázat: A PCR-hez alkalmazott fajspecifikus primerek.**

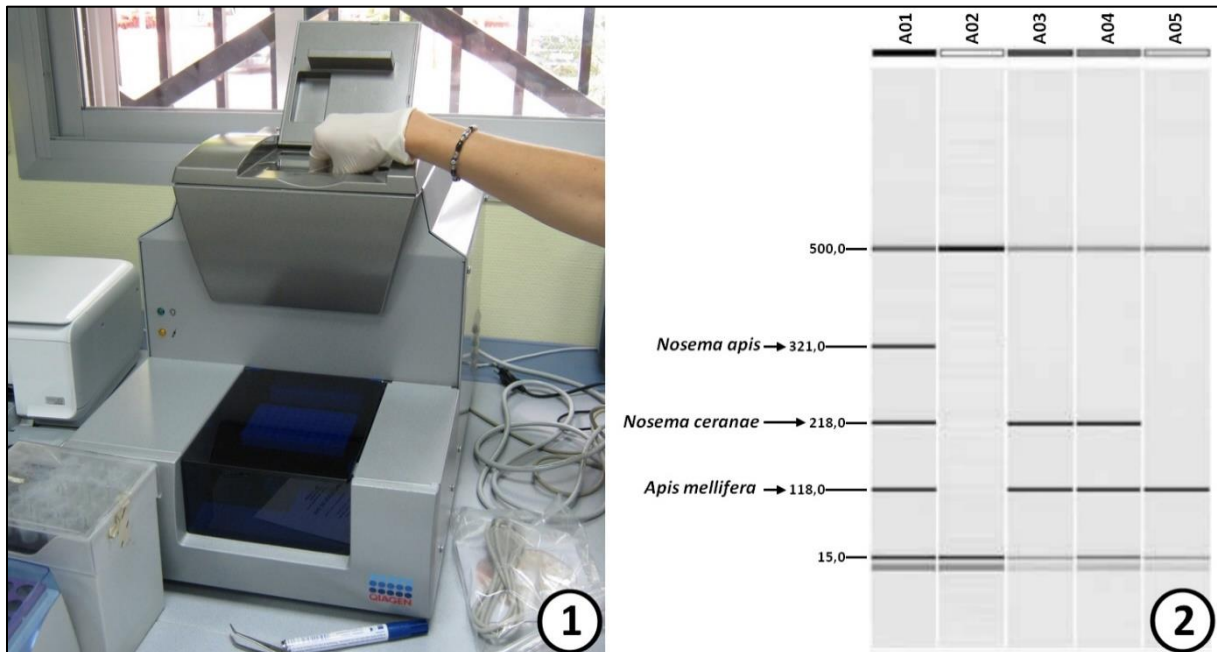
Primerek	Szekvenciák	PCR-termékek hossza (bázispár)	Fajok
218MITOC-FOR 218MITOC-REV	5'-CGGCGACGATGTGATATGAAAATATTA-3' 5'-CCCGGTCATTCTCAAACAAAAACCG-3'	218	<i>Nosema ceranae</i>
321APIS-FOR 321APIS-REV	5'-GGGGGCATGTCTTTGACGTAATGTA-3' 5'-GGGGGCGTTTAAATGTGAAACAATG-3'	321	<i>Nosema apis</i>
118COI-FOR 118COI-REV	5'-GGGTCCAAGACCAGGAAGTGGAT-3' 5'-GCGCGGAAATTCCTGATATATGAAGAGAAAA-3'	118	<i>Apis mellifera</i>

A PCR körülmények a következők voltak: 25 mikroliterben 12,5 mikroliter Fast Start Master (No. 04710452001 Roche Diagnostic, Basel, CH), a 218MITOC F/R és 321APIS F/R primerekből 0,4 mikromolt, a 118COI-F/R primerekből 0,2 mikromolt alkalmaztam, 0,2 milligramm/milliliter BSA, 0,1 % Triton X-100 és 2,5 mikroliter DNS templát. A termociklusos program beállítása 95 °C 10 perc, 35 ciklus 95 °C 30 másodperc, 61,8 °C 30 másodperc, és 72 °C 45 másodperc, végső meghosszabbítás 72 °C 7 perc. Ennek a technikának az érzékenységi szintjei 2,5 spóra *Nosema ceranae* vagy 25 spóra *Nosema apis* 150 mikroliter méh szuszpenzióból. A lehetséges szennyeződés kimutatása és a mintafeldolgozás megbízhatóságának felmérése érdekében a DNS izolálás és a PCR elemzési fázisai során a negatív és a pozitív kontrollokat párhuzamosan dolgoztam fel. A PCR programot Eppendorf Mastercycler Ep gradient S 7601 készüléken futtattam (17. ábra).



17. ábra: Qiagen BioSprint 96 készülék (1), Eppendorf Mastercycler Ep gradient S 7601 készülék (2)

Minden PCR-terméket nagyfelbontású kapilláris elektroforézis rendszerben Qiagen QIAxcel készülékkel elemeztem, QIAxcel DNS Resolution Kit (QIAgen, 929002 sz.) alkalmazásával (18. ábra).



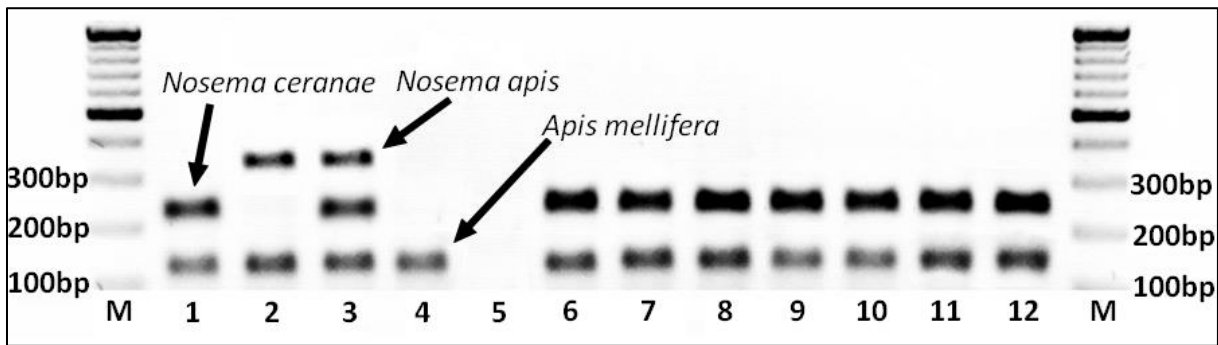
18. ábra: Qiagen QIAxcel nagyfelbontású kapilláris elektroforézis rendszer (1), és a PCR termékek megjelenítése (2)

### 3.1.4 Minta feldolgozás a „RET”-ben

A 2004-ből származó archív, konzervált méhminták retrospektív vizsgálatát és a 2010. nyári mintagyűjtésből származó méhmintáminták egy részének, illetve a 2010. őszi mintagyűjtésből származó méhminták vizsgálatát a Szent István Egyetem Gödöllői Regionális Egyetemi Tudásközpontban végeztem. Az archív méhminták 10-20 darab méhegyedből álltak, így az archív méhminták feldolgozásához annyi méhegyedet használtam, amennyi a mintánként rendelkezésre állt. A 2010-ben gyűjtött méhmintákból egyszerre 30 darab méhegyedet használtam. A mintánként összetartozó méhegyedeket LDPE simítózáras (M6080B, Labsystem) típusú tasakba helyeztem és 5 ml molekuláris biológiai minőségű H<sub>2</sub>O-t (MilliQ system) adtam hozzá. A tasakokat kézben dörzsöltem addig, amíg a tartalmuk homogén állapotúvá vált. A tasakok száját nem zártam be, hogy a felesleges levegő távozni tudjon és ne szakadjanak ki a tasakok. Az eljárás mintánként legalább 1 percig tartott. Tasakok tartalmát 50 mikronos nylon szűrőhálón keresztül 15 milliliteres centrifugacsövekbe szűrtem át, ezt követően a csöveket 6 percig 20 °C hőmérsékleten 800 x g sebességen centrifugáltam. A centrifugálást követően a csövek tartalmát dekantáltam, és a centrifugacsövek aljára letapadt pelletet 1 milliliter H<sub>2</sub>O-val 3 perc időtartamra vortex mixer segítségével újra szuszpendáltam.

Minden szuszpenzióból készült keneten biológiai fénymikroszkóppal 400 x-os nagyítás mellett ellenőriztem a *Nosema spp.* előfordulását és leszámoltam az egy méhegyedre jutó átlag spóra számot (részletesen „A spóraszám és fertőzött méhek arányának számolása” fejezetben tárgyalom). Az 1 milliliter szuszpenziót ismét centrifugáltam, ez alkalommal 1,5 milliliteres Eppendorf csövekben, 15 perc időtartamra, 4 °C hőmérsékleten, 13000 rpm fordulaton. A csövek tartalmát dekantáltam és a centrifugacsövek aljára letapadt pelletteh 300 µl CTAB buffert (CORNMANN és mtsai 2009) és 200 milligramm üvegyöngyöket (425-600 mikrométeres, Sigma-Aldrich) kevertem. Az Eppendorf csöveket tizesével ragasztószalaggal a vortex mixer (ZX3m, Velp Scientific) rezgő fejéhez rögzítettem és maximum fordulaton működtettem 5 perc időtartamra. A szuszpenziót 1000 milligramm proteináz K hozzáadását követően 12 óra időtartamra 200 rpm fordulaton rázva inkubáltam. A DNS kinyeréséhez 4 ciklus centrifugálást alkalmaztam, ciklusonként 15 perc időtartamra, 4 °C hőmérsékleten, és a ciklusok között a felülúszót (300 mikrolitert) minden alkalommal átmértem új Eppendorf csőbe a következők szerint: első ciklusban egyenlő mennyiségben 1:1 arányban szuszpenzió-fenol keveréket, második ciklusban egyenlő mennyiségben 1:1:1 arányban felülúszó-fenol-kloroform keveréket, harmadik ciklusban egyenlő mennyiségben 1:1 arányban felülúszó-kloroform keveréket, negyedik ciklusban 1:2,5 arányban felülúszó- -20 °C hőmérsékletű etanol keveréket centrifugáltam. A negyedik ciklust követően az etanolt eltávolítottam, az Eppendorf cső aljára letapadt pelletet kiszárítottam és ezt követően 30 mikroliter H<sub>2</sub>O-t hozzáadva feloldottam. Az izolált DNS-t tartalmazó Eppendorf csöveket -20 °C hőmérsékleten tároltam felhasználásig. A DNS mennyiségét, minőségét és tisztaságát spektrofotometriásan elemeztem Implen nanofotométerrel (Implen GmbH, Németország), és a koncentrációt vízzel 20 nanogrammm/mikroliterre állítottam be. A kivont DNS-t PCR-rel elemeztem a *Nosema* fajokra specifikus 218MITOC F/R és 321APIS F/R primerekkel (MARTÍN-HERNÁNDEZ és mtsai 2007). A vizsgálat során a nyugati mézelőméh DNS citokróm c-oxidáz (COI) génjének előfordulását ellenőrizve állítottam be a pozitív kontrollt. Az alkalmazott COI primerek szekvenciái a „CAR”-ban alkalmazott primerek szekvenciáival megegyeztek. A 25 mikroliter PCR reakcióelegy komponensei a következők voltak: 1 egység *AmpliTaq Gold* Polymerase buffer (Applied Biosystems), 1,5 mikroliter MgCl (25 mM), 2 mikroliter dNTP (2,5 mM), 2,5 mikroliter BSA (250 mg/ml), 3,3 mikroliter Triton X-100, 0,9 mikroliter minden 218MITOC (10 mM) és 321APIS (10 mM) primerből, 0,2 mikroliter COI-F/R (10 mM) primerek, és 9 mikroliter DNA templát (20 nanogrammm / mikroliter). A PCR termociklusos program beállítás szekvenciái a „CAR”-ban alkalmazott programmal megegyeztek.

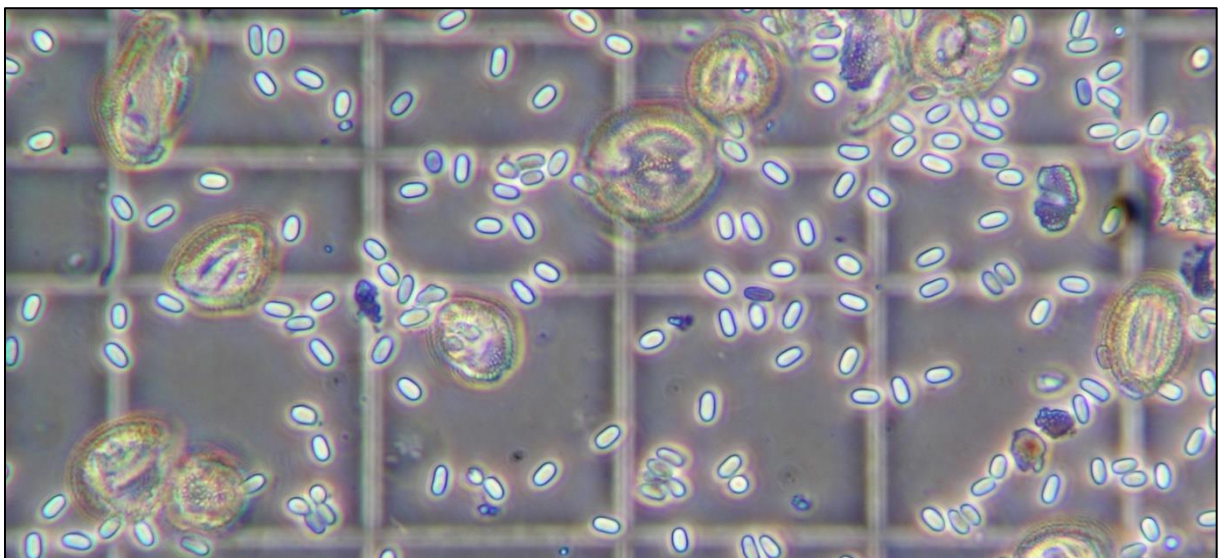
A PCR-termékeket agaróz gélelektroforézises eljárással jelenítettem meg (19. ábra).



19. ábra: A PCR-termékek megjelenítése agaróz gélelektroforézises eljárással.

### 3.1.5 A spóraszám és fertőzött méhek arányának számolása

Az átlagos spóraszámot a 2010. év októberi mintagyűjtésből készült szuszpenziók ellenőrzésekor számoltam haemocytometerrel (Bürker, Fein - Optik Jena, Tiefe 1/100mm, 1/400 és 1/25 qmm). Az általam használt standard haemocytometer 3 x 3 nagy kvadrátból áll, hármassal elválasztva. A középső nagy kvadrát felett 0,1 mikroliter folyadék réteg van. A középső kvadrát további 25 darab kisebb kvadrátból áll, szintén hármassal elválasztva, amelyek felett 4 nanoliter folyadék réteg van. A 25 darab kvadrát további 16 darab kisebb kvadrátból áll, szimpla vonallal elválasztva, amelyek felett 0,25 nanoliter folyadék réteg van. Ha a 4 nanoliter térfogat alatti kvadrátok esetében a spórák száma első ránézésre is egyértelműen többnek mutatkozott, mint 100 spóra, akkor a 0,25 nanoliter térfogat alatti kvadrátokkal számoltam. A spórákat számolva azok közül, amelyek a vonal fölött helyezkedtek el, csak a bal oldali vonal és a felső vonal fölött elhelyezkedőket számoltam (20. ábra).



20. ábra: A spórák elhelyezkedése a haemocytometer a kvadrát vonalain, 400x mikroszkópos nagyításban.

CANTWELL (1970) és HUMAN és mtsai (2013) közleményei alapján az eredeti ~30 darab méhegyedhez adott 5 milliliter vizes hígítási arányt követtem. A 4 nanoliter térfogat alatti kvadrátra számolt spórák számából a 21. ábra szerinti formula alapján számítottam ki a hígítási faktort és az egy méhegyedre jutó átlag spórák számát (21. ábra).

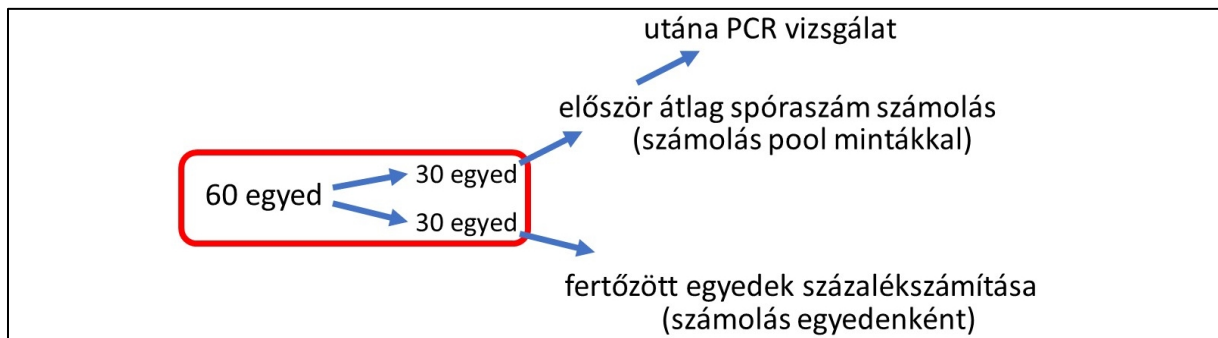
egy méhegyedre jutó átlag spóraszám =  $Q \times \beta \times \delta$

Ahol:

- „Q” a 4 nanoliteres quadrátra számolt spórák száma
- „ $\beta$ milliliter” a váltószám az 1 milliliterre =250 000
- „ $\delta$ ” a hígítási faktor =  $\frac{5 \text{ milliliter}}{\text{méhegyedek száma}} \approx 0,166 \text{ milliliter/méhegyed}$

21. ábra: Az egy méhegyedre jutó átlag spóraszám számításához használt formula.

A fertőzött méhek arányát a 2010. év októberi mintagyűjtésből származó minták maradék méhegyedét (n=30) felhasználva számoltam ki (22. ábra).



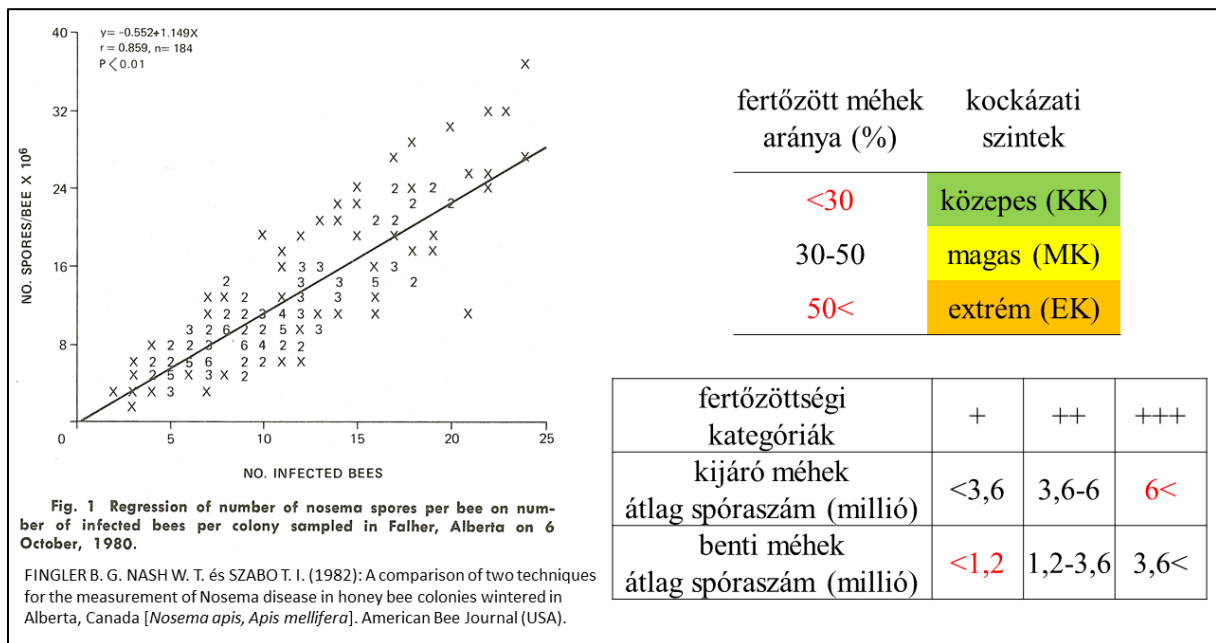
22. ábra: Az októberi mintagyűjtésből származó minták felhasználása.

A mintákból minden méhegyedet külön-külön egyesével dörzsmozsárban 1 milliliter desztillált víz hozzáadásával dörzsoltem szét. A homogén dörzsolékből készült keneteken fénymikroszkóppal 400 X-os nagyítás mellett ellenőriztem a *Nosema spp.* előfordulását. Minden egyes mintán többszörös látómező ellenőrzést alkalmaztam, ha a keneten három különböző látómezőre pozícionálva nem láttam spórát, akkor negatívnak minősítettem.

### 3.1.6 Fertőzöttségi kategóriák és kockázati szintek meghatározása

A vizsgálatom során mért adatok feldolgozásakor a fertőzés mértékének hagyományos, kvalitatív és kvantitatív kategorizálást összehangoltam. A fertőzöttségi kategóriák és kockázati szintek meghatározásához a nosemosis diagnosztikájában kockázati szint alapú

szemikvantitatív értékelési módszert nem találtam, ezért csak részben tudtam az irodalomra támaszkodni. FINGLER közleményében találtam a legnagyobb vizsgált elemszámot, ezért az általa mért értékeiből indultam ki. A legmagasabb értékeit a „már elkéstünk” kategóriába soroltam. Az átlag spóraszámok esetében a FINGLER és mtsai. (1982) legmagasabb értékének négyzetgyök értékét vettem +++-esnek, a legalacsonyabb mért értéket az +-esnek, a ++-es értéket a kettő középértékével határoztam meg. A fertőzött méhek %-os aránya esetén a FINGLER legmagasabb értékének, ami 100% volt, annak a felét, az 50%-ot határoztam extrém kockázatúnak. A közepes kockázati értékhez a 30%-ot pedig utólag a már kapott mérési eredmények szerint határoztam meg (CSÁKI és mtsai. 2015), amikor már leszámoltam az összes mintát (23. ábra). Ezt az eredményeknél tárgyalom.



23. ábra: FINGLER és mtsai. adatai (bal oldalon), a kockázati szintek a fertőzött méhek aránya szerint (jobbra fent) és a fertőzött méhek arányának kvantilis regressziója az átlagos spóraszámától függően (jobbra lent).

### 3.1.7 Statisztikai elemzés

A független valószínűségek összehasonlítására Z-tesztet végeztem az MS Excel alkalmazásával. Az eloszlások homogenitásának vizsgálatához Khi-négyzet tesztet alkalmaztam szintén az MS Excel alkalmazásával. Az átlagos spóraszám és a fertőzött méhek aránya közötti összefüggés elemzéséhez az MS Excel alkalmazásával végzett lineáris kvantilis regressziót használtam.

## 3.2 Eredmények

### 3.2.1 Archív, konzervált minták retrospektív vizsgálati eredménye

Mind a 26 minta esetében fénymikroszkópos vizsgálattal igazoltam a *Nosema spp.* előfordulását. A PCR vizsgálatokkal azonban csak 6 (23%) minta esetében tudtam igazolni a *Nosema spp.* előfordulását. A 6 minta közül 5 minta esetében mindkét *Nosema* faj előfordulását igazoltam, és csak egy minta esetében igazoltam a *Nosema ceranae* önálló előfordulását (24. ábra).

### 3.2.2 A 2010-ben gyűjtött méhminták vizsgálati eredményei

A 2010. évben gyűjtött méhminták vizsgálatából származó adatok alapján a *Nosema spp.* fertőzött méhcsaládok aránya 95% és 98% között változott (2. táblázat).

2. táblázat: A fertőzött családok aránya, illetve a fertőzés típusa az évszakonként.

évszak	fertőzött családok aránya (%)	fertőzés típusa		
		<i>Nosema ceranae</i> aránya (%)	<i>Nosema apis</i> aránya (%)	vegyes fertőzés aránya (%)
tavaszi	95	95	1	4
nyári	98	97	0	3
őszi	97	98	1	1

Az évszakonkénti összehasonlításban a fertőzött méhcsaládoknak sem a száma, sem az aránya nem mutatott szignifikáns különbséget (Z-teszt:  $P > 0,05$ , 3. táblázat).

3. táblázat: A fertőzött családok arányainak összehasonlítása évszakpáronként, minták arányai (P), elemszámok (N), a statisztikai teszt Z értéke, szignifikancia szint (p).

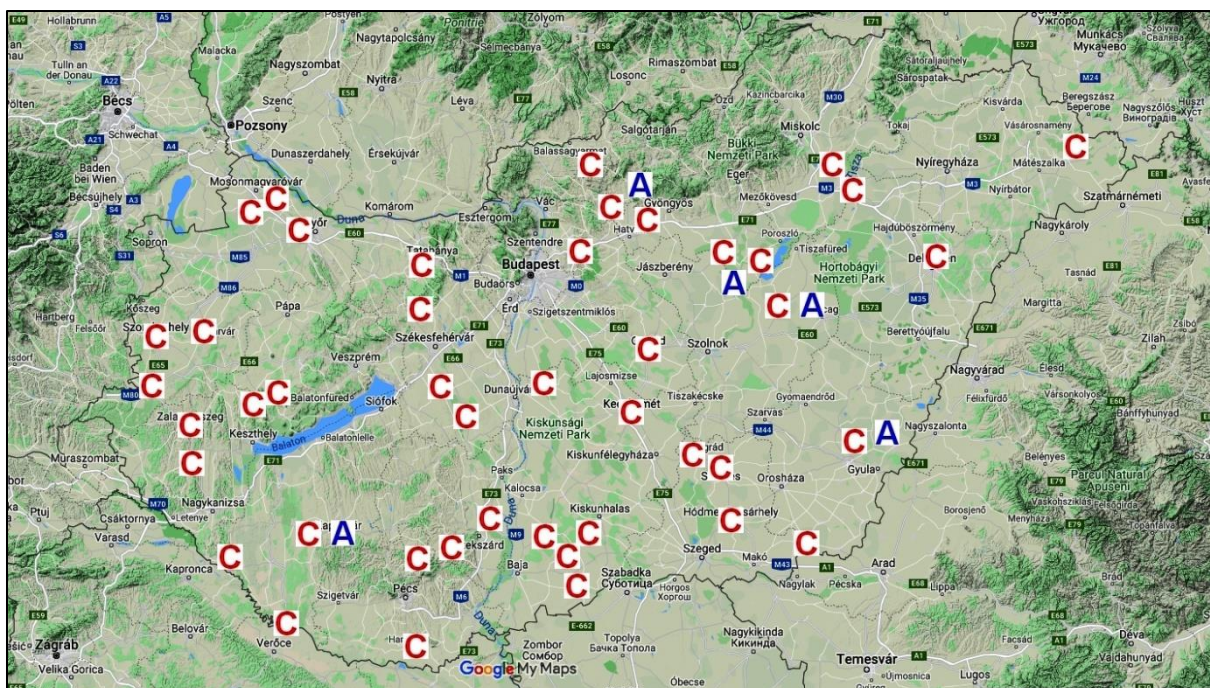
évszak	P1	P2	N1	N2	Z	p
tavaszi-őszi	0,95	0,98	125	142	-1,35	0,18
őszi-nyári	0,97	0,98	142	147	-0,55	0,59
tavaszi-nyári	0,95	0,98	132	147	-1,38	0,17

A *Nosema ceranae* és a *Nosema apis* fertőzési arány eloszlása az évszakok tekintetében homogén (Khi-négyzet-teszt:  $\chi^2(2) = 1,11$ ;  $P = 0,57$ ). A *Nosema ceranae* prevalenciája minden évszak tekintetében szignifikánsan magasabb volt, mint a *Nosema apis* vagy a mindkét faj együttes előfordulása (mindhárom évszakban  $Z > 15,3$ ;  $P < 0,001$ ). A fertőzött mintákban a *Nosema ceranae* fertőzések aránya 95% és 98% között változott (4. táblázat).

4. táblázat: A *Nosema ceranae* fertőzött családok arányainak összehasonlítása évszakpáronként, minták arányai (P), elemszámok (N), a statisztikai teszt Z értéke, szignifikancia szint (p).

évszak	P1	P2	N1	N2	Z	p
tavaszi-őszi	0,95	0,98	119	139	-1,33	0,18
őszi-nyári	0,98	0,97	139	142	0,54	0,59
tavaszi-nyári	0,95	0,97	119	142	-0,83	0,41





24. ábra: A 2010. év mintavételi helyszínek elhelyezkedése, ahol a *Nosema ceranae* vagy *Nosema apis* előfordulását igazoltam („C”= *Nosema ceranae*, „A”= *Nosema apis*).

Kiszámítottam az egy egyedre vonatkozó spóraszám-kategóriákban az 5%; 10%; 50%; 90%, és 95%-os fertőzöttség-quantiliseket a benti méhek mintáiban A 25. ábrán a színes táblázatban az első sorban az utolsó érték (0,27) azt jelenti, hogy az adott kategóriában (ez az egy + kategória) az adatok 95%-a mutat 27 %-os, illetve annál alacsonyabb fertőzöttséget.

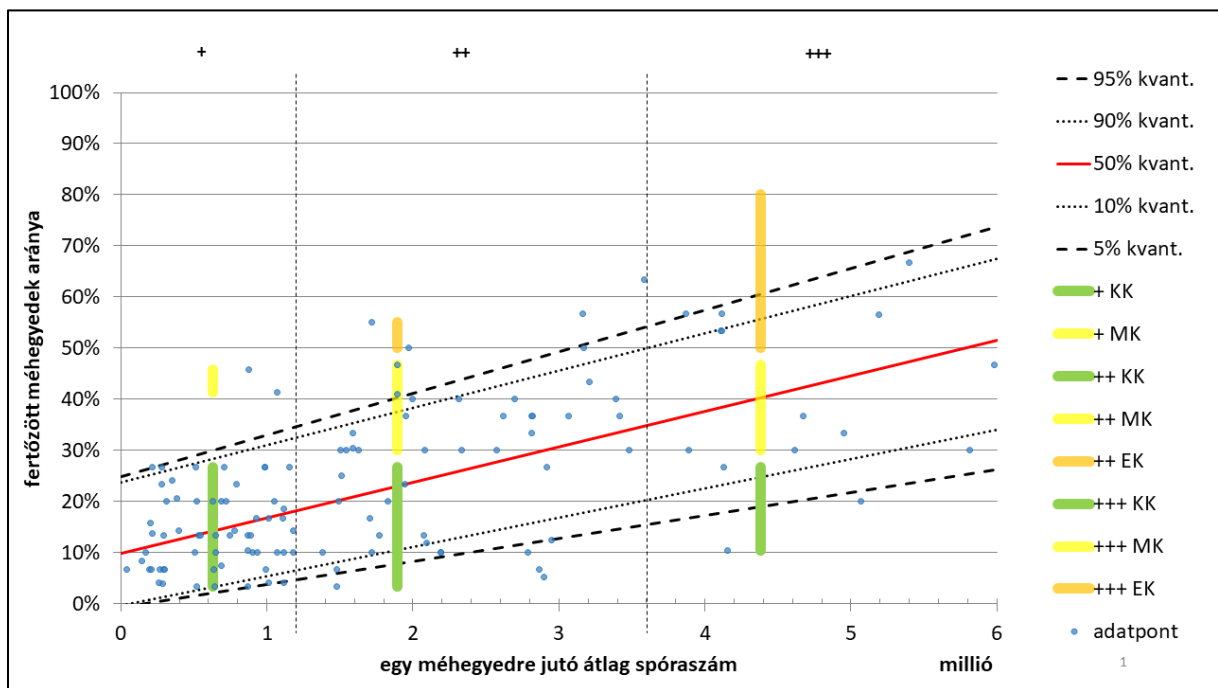
kvantilisok	5%	10%	50%	90%	95%
<1,2 millió	0,04	0,05	0,13	0,27	0,27
1,2-3,6 millió	0,06	0,08	0,24	0,40	0,45
3,6 millió<	0,23	0,30	0,45	0,60	0,65

fertőzöttségi kategóriák	+	++	+++
egy méhegyedre jutó átlag spóraszám (millió)	<1,2	1,2-3,6	3,6<
egy méhegyedre jutó átlag spóraszámok középértéke	590 600	1 947 344	5 099 136
egy méhegyedre jutó átlag spóraszámok mediánja	630 360	1 894 200	4 384 440

25. ábra: A benti méhek mintáiban az egy méhegyedre jutó átlag spóraszám szerinti kategóriákban a fertőzött méhek arányainak kvantilisei.

A fertőzött méhek aránya szerinti kvantilisokra az egy egyedre jutó spóraszámoktól függő lineáris modellt illeszttem. A 26. ábra azt mutatja be, hogy a benti méhek esetében, ha az egy egyedre jutó spóraszám 1,2 millió érték alatt van, akkor a méhcsalád fertőzöttségének kockázati szintje közelítőleg 95% valószínűséggel közepes (ez az, amikor a méhegyedek kevesebb, mint 30%-a fertőzött). Ha az egy egyedre vonatkozó spóraszám 1,2 millió és 3,6 millió között van, akkor a méhcsalád fertőzöttségének kockázati szintje közelítőleg csupán 50% valószínűséggel marad közepes. Ha az egy egyedre vonatkozó spóraszám meghaladja a 3,6 millió értéket, akkor a méhcsalád fertőzöttsége közelítőleg csak 10% valószínűséggel marad közepes, 90% valószínűséggel ennél magasabb kockázatú, és több mint 10% valószínűséggel extrém magas kockázattal kell számolnunk (ez az, amikor a méhegyedek több mint 50%-a fertőzött).



26. ábra: A benti méhek mintáiban a fertőzött méhek aránya szerinti kvantilisokra illesztett az egy egyedre jutó spóraszámoktól függő lineáris modell. (Az „+” jelek az egy méhegyedre jutó átlag spóraszám szerinti fertőzöttségi kategóriák jelölése. „KK” = közepes kockázat, „MK” = magas kockázat, „EK” = extrém kockázat).

A kijáró méhek mintái esetében is kiszámítottam az egy egyedre vonatkozó spóraszám-kategóriákban az 5%; 10%; 50%; 90%, és 95%-os fertőzöttség-kvantiliseket. A 27. ábrán a színes táblázatban az első sorban a második érték (0,13) azt jelenti, hogy az adott kategóriában (ez az egy +-es kategória) az adatok 10%-a mutat 13 %-os, illetve annál alacsonyabb fertőzöttséget.

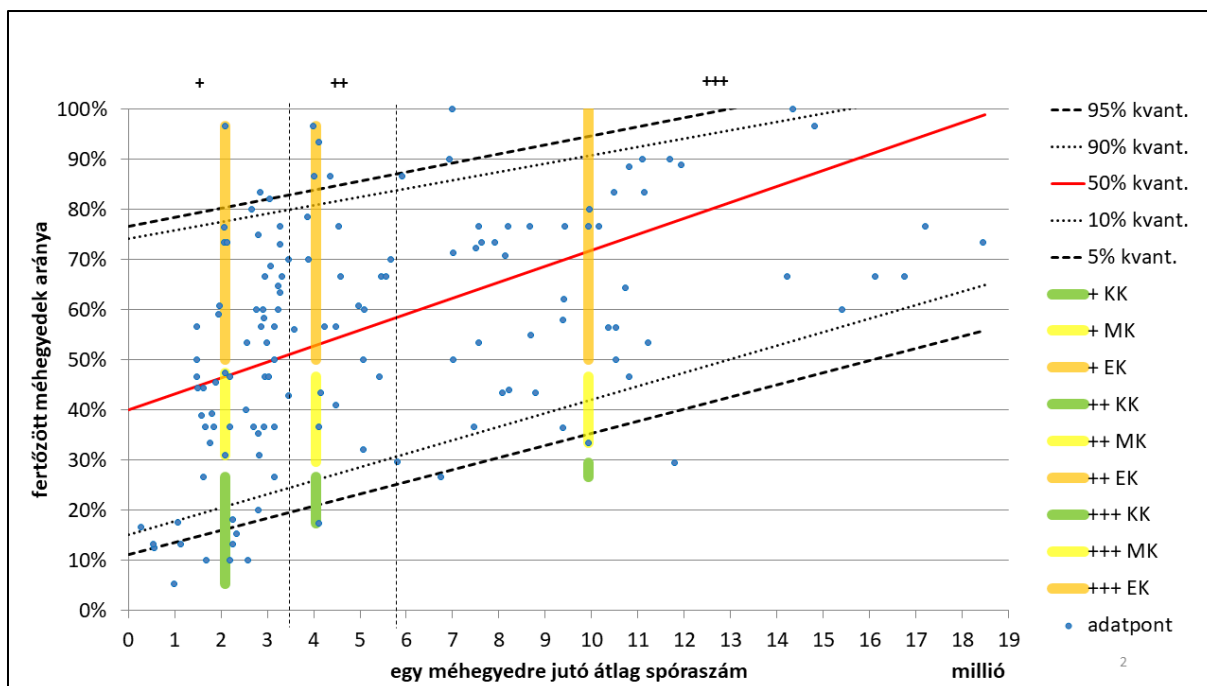
kvantilisok	5%	10%	50%	90%	95%
<3,6 millió	0,10	0,13	0,40	0,73	0,78
3,6-6 millió	0,29	0,36	0,62	0,87	0,87
6 millió<	0,34	0,41	0,71	0,90	0,95

fertőzöttségi kategóriák	+	++	+++
egy méhegyedre jutó átlag spóraszám (millió)	<3,6	3,6-6	6<
egy méhegyedre jutó átlag spóraszámok középértéke	2 083 136	4 120 005	10 358 893
egy méhegyedre jutó átlag spóraszámok mediánja	2 091 840	4 059 720	9 929 280

27. ábra: A kijáró méhek mintáiban az egy méhegyedre jutó átlag spóraszám szerinti kategóriákban a fertőzött méhek arányainak kvantilisei.

A kijáró méhek esetében is a fertőzött méhek aránya szerinti kvantilisekre az egy egyedre jutó spóraszámoktól függő lineáris modellt illesztettem. A 28. ábra azt mutatja be, hogy a kijáró méhek esetében, ha az egy egyedre jutó spóraszám 3,6 millió érték alatt van, akkor a méhcsalád fertőzöttségének kockázati szintje közelítőleg 10% valószínűséggel közepes (amikor a méhegyedek kevesebb mint 30%-a fertőzött). Ha az átlag spóraszám 3,6 millió és 6 millió között van, akkor a méhcsalád fertőzöttségének kockázati szintje csupán 5% valószínűséggel közepes és több mint 50% valószínűséggel extrém magas (amikor a méhegyedek több mint 50%-a fertőzött). Ha az egy egyedre vonatkozó spóraszám meghaladja a 6 millió értéket, akkor a méhcsalád fertőzöttsége 95%-nál nagyobb valószínűséggel magas kockázatú (amikor a méhegyedek 30- 50%-a fertőzött), és több mint 50% valószínűséggel extrém magas (amikor a méhegyedek több mint 50%-a fertőzött).



28. ábra: A kijáró méhek mintáiban a fertőzött méhek aránya szerinti kvantilisokra illesztett az egy egyedre jutó spóraszámoktól függő lineáris modell. (Az „+” jelek az egy méhegyedre jutó átlag spóraszám szerinti fertőzöttségi kategóriák jelölése. „KK” = közepes kockázat, „MK” = magas kockázat, „EK” = extrém kockázat).

### 3.2.1 A kijáró méhek és a benti dolgozó méhminták összehasonlítása

A regresszióanalízis szignifikáns korrelációt mutat az egy méhre jutó spóraszám és a fertőzött méhek százalékos aránya között ( $R_{\text{benti}} = 0,65$ ;  $N = 130$ ;  $R_{\text{kijáró}} = 0,43$ ;  $N = 138$ ;  $P < 0,001$  mindkét esetben). A fertőzött méhek aránya a kijáró méhek mintáiban minden évszakban magasabb volt, mint a benti dolgozó méhek mintáiban, azonban szignifikáns különbségeket nem sikerült kimutatni (Z-próba:  $P > 0,05$ , 5-6. táblázat).

5. táblázat: A fertőzött méhek aránya a kijáró méhek és benti dolgozó méhek esetében.

évszak	méhminta típus	
	fertőzött kijárók (%)	fertőzött benti dolgozók (%)
tavaszi	90%	84%
nyári	98%	95%
ősz	94%	90%

**6. táblázat: A kijáró méhek és benti dolgozók fertőzött méhmintáinak aránya (P), elemszámok (N), a statisztikai teszt Z értéke, szignifikancia szint (p).**

évszak	minta típus	P1	P2	N1	N2	Z	p
tavaszi	kijáró-benti	0,9	0,84	119	111	1,36	0,17
nyár	kijáró-benti	0,98	0,95	147	138	1,39	0,17
ősz	kijáró-benti	0,94	0,9	142	133	1,23	0,22

A 2010. évben gyűjtött minták mikroszkópos kiértékelésének eredményeit a PCR-elemzési eredmények támasztották alá. A fáziskontraszt-mikroszkóppal nyert adatok összehasonlíthatók a fénymikroszkóppal nyert adatokkal. A 7. táblázat szerint bármelyik mikroszkópos vizsgálat eredményeihez képest a PCR vizsgálatok eredményei valamivel magasabb fertőzési szintet mutatnak. A tavaszi gyűjtésből származó mintáknál a mikroszkópos vizsgálatok 89%-ának pozitív eredményével szemben a PCR vizsgálatok 95%-a hozott pozitív eredményt. A nyári gyűjtésből származó mintáknál a mikroszkópos vizsgálatok 97%-ának pozitív eredményével szemben a PCR vizsgálatok 98%-a hozott pozitív eredményt. Az őszi gyűjtésből származó mintáknál a mikroszkópos vizsgálatok 95%-ának pozitív eredményével szemben a PCR vizsgálatok 97%-a hozott pozitív eredményt. Azonban a Z-teszt szerint egyetlen szezonban sincs szignifikáns különbség a mikroszkóppal és a PCR-rel kimutatott fertőzési arány között ( $P > 0,05$ , 7. táblázat).

**7. táblázat: A nosema fertőzöttség-kimutatási módszerek érzékenységének összehasonlítása: pozitív minták arányai, elemszámok, a statisztikai teszt Z értéke, szignifikancia szint (p).**

évszak	módszer	pozitív miták arányai (%)	N	Z	p
tavasz	mikroszkóp	89	133	-1,80	0,07
	PCR	95	133		
nyár	mikroszkóp	97	155	-0,56	0,57
	PCR	98	155		
ősz	mikroszkóp	95	148	-0,88	0,38
	PCR	97	148		

Olcsóbb DNS izolálási módszert és multiplex PCR-analízist alkalmazva a két *Nosema* fajt kimutattam és azonosítottam a magyarországi nyugati mézelő méhből. A módszerrel kimutattam a *Nosema spp.* előfordulását azokból a méhmintákból is, amelyek fertőzöttsége fénymikroszkóppal nem volt igazolható.

### 3.3 Új tudományos eredmények

1. Az archív, konzervált minták retrospektív vizsgálatával igazoltam, hogy a *Nosema ceranae* legalább 2004. óta létezik Magyarországon.
2. A 2010. évben tavasszal, nyáron és ősszel Magyarország egész területére reprezentatívan gyűjtött méhmintákon PCR-el végzett vizsgálataim alapján megállapítottam, hogy Magyarországon a *Nosema ceranae* megjelenésének és fertőzésének nincs ciklikussága az évszakok függvényében, egész évben országosan jelen van a hazai méhállományokban
3. A nosemosis diagnosztikájában kockázati szint alapú szemikvantitatív értékelési módszert vezettem be, amivel pontosabban lehet meghatározni a fertőzöttséget méhcsalád szinten. A módszerrel igazoltam, hogy ugyanazon méhcsalád esetében a benti és kijáró méhek mintáit eltérően kell értékelni.
4. Tudomásom szerint először végeztem a hazai *Nosema spp.* vizsgálatokhoz sikeres triplex PCR vizsgálatot 218MITOC F/R, 321APIS F/R és 118COI F/R primerekkel úgy, hogy ennek során a DNS-kinyeréséhez és tisztításához a kereskedelmi forgalomban lévő szöveti lizátort és sejtörőt helyettesítettem közönséges vortex keverővel és hagyományos fenol-kloroformos keverék centrifugálásával, továbbá az elektroforézist szintén hagyományos agaróz gélen futtattam.

## 4 Következtetések és javaslatok

### 4.1 Az eredmények értékelése

Az archív, konzervált minták retrospektív vizsgálatával igazoltam, hogy *Nosema ceranae* legalább 2004. óta létezik Magyarországon. Az, hogy hat pozitívnak talált minta közül ötben mindkét *Nosema* faj jelen volt, az arra is utalhat, hogy nagyjából ebben az időben (nem sokkal korábban) történhetett a *Nosema ceranae* behurcolása, és még nem szorította ki a *Nosema apis*-t. TAPASZTI és mtsai (2009) és a saját 2010-ben végzett vizsgálataim során a 2004-hez képest jóval nagyobb arányban találtunk *Nosema ceranae*-t. A legfrissebb vizsgálatok szerint pedig napjainkra szinte eltűnt a *Nosema apis* a méhészetekből. Az archív, konzervált minták esetében a nosema fertőzöttségre pozitív eredmény igazolása a fénymikroszkópos vizsgálati eredményekhez képest a PCR vizsgálatoknál kevesebb volt, amit úgy vélem, hogy a tárolási körülmények okoztak. Ezeket a mintákat az évek során számos alkalommal kiolvastották, és újra lefagyasztották.

Mivel minden évszakban rendkívül alacsony *Nosema apis* előfordulási arányt találtam, véleményem szerint a BAILEY (1955) által közölt *Nosema apis* ciklikus előfordulási elméletét felül lehetne vizsgálni. Ezzel szemben a *Nosema ceranae* előfordulása folyamatos. TAPASZTI és munkatársai (2009) kimutatták, hogy a *Nosema ceranae* a nyári szezonban volt domináns, és a vizsgálataim adatai azt igazolják, hogy a *Nosema ceranae* egész évben domináns.

Annak ismeretében, hogy a *Nosema ceranae* fertőzés egész évben magasabb szinten fennmarad, az a szokványos szezonális kezelési stratégia, amit eredetileg *Nosema apis*-hoz alakítottak, nem lenne megfelelő. Ezt támasztja alá a fertőzés típusán alapuló terminológia, vagyis a „C” típusú nosemosis más, mint az „A” típusú nosemosis. Korábban a nosemosis kezelésére akkor került sor, amikor a klasszikus tünetek kora tavasszal és késő ősszel jelentkeztek. A nyári hónapokban Magyarország minden területén sok méhészt figyelt meg váratlan méhcsalád-gyengülést és elhullást. Mivel nem számítottak a *Nosema ceranae* előfordulására, ezért nem alkalmaztak semmilyen beavatkozást ellene. FORSGREN és FRIES (2010) munkája szerint a két *Nosema* faj között nem lehetnek szignifikáns különbségek a patogenitásban, azonban az egyetlen típushoz idomult kezelési stratégia lehetővé tette a *Nosema ceranae* terjedését. Ez utóbbit más közlemények is megerősítették (MARTÍN-HERNÁNDEZ és mtsai 2011), (HIGES és mtsai 2013), (WILLIAMS és mtsai 2014) és (VAN DER ZEE és mtsai 2014), ezért javaslom a nosema fertőzöttség rendszeres ellenőrzését nyári időszakban is.

Tanulmányom eredményei alapján MEANA és munkatársai (2010) javaslatát megerősítem a méhcsaládok egészségi állapotának felmérésével kapcsolatban, ami szerint a fertőzött méhegyedek aránya megbízhatóbb módszer lehet a méhcsalád fertőzöttségi szintjének megállapítására. Ez különösen fontos, mert a *Nosema ceranae* egy egész évben létező probléma. A kijáró méhek mintázásával végzett proaktív monitorozás egy jobb ellenőrzési módszer a nosemosis ellenőrzésére, mint a benti dolgozók mintázásával végzett vizsgálati módszer. A méhcsaládok veszélyeztetése és zavarása szempontjából harminc-harminc egyedszámú vizsgálatot javaslok. Véleményem szerint ez az a mintaméret, amit gyakorlatilag bármilyen, az évszaknak megfelelő népességű családtól elvehető komolyabb veszteség nélkül. Azonban a vizsgálatom során sem időzítettem téli hónapra mintázást. Egyrészt, mert télen általában nincsenek kijáró méhek, másrészt télen a benti méhek mintázása kaptárbontással járna, ami olyan drasztikus zavarást jelent egy család esetében, ami már visszafordíthatatlan következményekkel járhat.

ANTÚNEZ (2009) megállapította, hogy a *Nosema spp.* fertőzés következtében a méhekben a vitellogenin szint csökken, különösen a *Nosema ceranae* fertőzés esetén. NELSON (2007) megállapította, hogy a méhekben a vitellogenin befolyásolja a méhek kijárását,

gyűjtögetési viselkedését. Kutatási eredménye szerint minél alacsonyabb a méhek vitellogenin szintje, annál korábban válnak kijáró méhekké. Az előbbi két publikációból arra lehet következtetni, hogy a *Nosema ceranae*-vel megfertőződött méhegyedek vitellogenin szintje lecsökken, ennek következtében korábban válnak kijáró méhekké. Ha ez a következtetés igaz, akkor ez magyarázatot ad arra is, hogy a benti dolgozó méhegyedeknél miért magasabb a kijáró méhekből származó méhmintákban a fertőzött méhegyedek aránya. Ha a méhcsaládon belül a *N. ceranae* fertőzés hatására eltolódik az élettani arány a bent dolgozó és a kijáró méhek között (az utóbbiak javára), akkor ez problémát okozhat a fiasítás gondozásában. Véleményem szerint a probléma először az idősebb, már fedett fiasítás gondozásában merül fel, ugyanis, ha nosema spórás pollennel a legfiatalabb dajkaméhek fertőződnek meg, azok esetében is, ANTÚNEZ (2009) publikációja szerint a fertőződéstől eltelt hetedik napra lesz szignifikánsan alacsonyabb a vitellogenin szint. Hétnapos korában a benti méhek már nem a fiasítás etetésével foglalatostkodnak, de fontos szerepük van az idősebb fiasítás takarásában. A takarás nélkül maradó fiasítás megfázik, elpusztul. Ha a család takarító hajlama ezt nem küszöböli ki, akkor további méhbetegségek is kialakulhatnak a családban. A *N. ceranae* fertőzéstől korábban kijáróvá vált méhek véleményem szerint több okból kifolyólag is rövidebb életűek lesznek, mint azok a társaik, akik a normális életkorukban, nosema fertőzéstől mentesen, a 21 napos koruktól válnak kijáró méhekké. Az egyik alapvető ok, hogy vitellogenin szint csökken a nosema fertőzés következtében, az a tökéletlen emésztésből fakad. Az ilyen egyed vélhetően minőségi éhezésben, energia deficitben szenved, miközben „gyűjtő bogárként” sokkal intenzívebb aktivitású, mint a benti társai. Az intenzívebb aktivitás mellett, a tökéletlen emésztés miatt a regenerálódás is tökéletlenebb. Ezek az egyedek gyorsabban kopnak, idővel enerváltabban repülnek. Vagy elgyengülés közben haza sem érnek a repülésből, vagy az enervált, lassabb repülésük miatt, hamarabb esnek áldozatul a ragadozóiknak. Ezt a feltételezést alátámasztja HIGES és mtsai. (2008a) közleménye, amelyben publikálták, hogy a gyurgyalag (*Merops apiaster*) köpetében jellemzően megtalálható a *Nosema ceranae*.

Véleményem szerint, ha a méhcsalád nosema fertőzöttségét időben észreveszik, akkor a dolgozatomban fentebb példaként említett csersav kezelésből adódó peritrof hártya vastagodás nem egyedi, hanem méhcsalád szinten segíthet a gyógyulásban. Ehhez azonban kell a család jó takarító hajlama. A takarító méhek a takarítás során meg fognak betegedni, de a fertőzés elhatalmasodása elodázódik. Ha takarítás intenzitása nagyobb, mint a spórák kaptáron belüli terjedése, akkor a meggyógyulhat a család.

A DNS-kinyeréséhez és tisztításához a kereskedelmi forgalomban lévő szöveti lizátort és sejtörőt helyettesítettem közönséges vortex keverővel és fenol-kloroformos keverék



centrifugálásával. A helyettesítő módszer kapacitása a kísérletben vizsgált nagy mintaszámhoz képest alacsonynak mondható, de a szerényebb műszerparkkal rendelkező laboratóriumok számára alkalmi vizsgálatokhoz elegendő. A TAPASZTI és munkatársai (2009) által alkalmazott PCR-RFLP módszer esetében egyszerre egy PCR termék futtatható, valamint a PCR és az elektroforézis között még két lépés szükséges, egy tisztítás és egy emésztés lépés. Az általam alkalmazott triplex PCR esetében egy PCR programban három PCR terméket is lehetett futtatni, továbbá a PCR program után közvetlenül futtatható az elektroforézis.

A nosemosis magyarországi vizsgálatait ki kell egészíteni a méhállomány százalékos fertőzöttsége és az összeomlott méhcsaládok száma közötti korreláció vizsgálatával, illetve annak alakulására vonatkozó adatok gyűjtésével. Szintén javaslom a *Nosema ceranae* által okozott méhcsalád mortalitás és a méztermelés kiesés nyomonkövetését.

## 5 Összefoglalás

Ma Magyarországon a méhészet 20 ezer embernek ad fő vagy kiegészítő jövedelemforrást. A méhek, beleértve a vadon élő méhfajokat is, a megporzásban betöltött szerepük az egyik legfontosabb ökoszisztéma szolgáltatásnak számít. Ezért joggal mondhatjuk, hogy a méhek az ökoszisztéma egyik legfontosabb és legérzékenyebb része. A CCD elnéptelenedés szindróma mára már világszerte ismert fogalommá vált, amelyért több stressz tényezőt tesznek felelőssé, különösen a nyugati mézelő méhek korábban egzotikusnak számító ázsiai kórokozói. Legfőképpen a varroa atkát, mivel az általa okozott varroosis betegség látványos kórfejlődése és tünete évtizedekre elvonta a figyelmet. Így az érdeklődés elől elbújva, a rendszeres vizsgálatok és indokolt beavatkozások hiányában a nosemosis a világon már csaknem mindenütt jelen van. Ezért a vizsgálata fontos és aktuális. Célkitűzéseim a hazai mézelő méheket megbetegítő *Nosema* fajok előfordulásának vizsgálata, és kimutatási módszerének fejlesztése.

Kutatásomban a KATKI intézetében konzervált, 2004. évből származó méhmintákat vizsgáltam fénymikroszkóppal és PCR-el. 2010. évben tavasszal, áprilisban, nyáron, júliusban és ősszel, októberben országosan területileg reprezentatívan gyűjtött kijáró és benti dolgozó méhek mintáit vizsgáltam szintén fénymikroszkóppal és PCR-el. A mintafeldolgozás során a nosemosis mikroszkópos diagnosztikájának gyakorlatát fejlesztettem, figyelembe véve a mintagyűjtés módszerét is. A fertőzési típusok megkülönböztetéséhez alkalmazott triplex PCR vizsgálatot teljesítettem kereskedelmi kitt és az azt kiszolgáló automatizált technológia nélkül.

Az archív, konzervált minták retrospektív vizsgálatával igazoltam, hogy *Nosema ceranae* legalább 2004. óta létezik Magyarországon. Az, hogy hat pozitívnak talált minta közül ötben mindkét *Nosema* faj jelen volt, az arra is utalhat, hogy nagyjából ebben az időben (nem sokkal korábban) történhetett a *Nosema ceranae* behurcolása, és még nem szorította ki a *Nosema apis*-t. Megállapítottam, hogy Magyarországon a *Nosema ceranae* megjelenésének és fertőzésének nincs ciklikussága az évszakok függvényében, egész évben országosan jelen van a hazai méhállományokban. Tudomásom szerint először végeztem a hazai *Nosema* fajok elkülönítéséhez sikeres triplex PCR vizsgálatot úgy, hogy ennek során a DNS-kinyeréséhez és tisztításához a kereskedelmi forgalomban lévő szöveti lizátort helyettesítettem közönséges vortex keverővel és hagyományos fenol-kloroformos keverék centrifugálásával, továbbá az elektroforézist szintén hagyományos agaróz gélen futtattam. A nosemosis diagnosztikájában kockázati szint alapú szemikvantitatív értékelési módszert vezettem be, amivel pontosabban lehet meghatározni a fertőzöttséget méhcsalád szinten.

## 6 Summary

Today, beekeeping provides the main or additional source of income for 20,000 people in Hungary. The role of bees, including wild bee species, in pollination is one of the most important ecosystem services. Therefore, we can rightly say that bees are one of the most important and sensitive parts of the ecosystem. CCD depopulation syndrome has now become a worldwide known concept. Several stressors are held responsible, especially the previously considered exotic Asian pathogens of the Western honey bees. Most notably, the Varroa mite has been distracted for decades by the spectacular development and symptoms of the varroosis disease it causes. Thus, hiding from interest, in the absence of regular examinations and justified interventions, nosemosis is now present almost everywhere in the world. Therefore, its investigation is important and topical. My objectives are to investigate the occurrence of *Nosema* species in Hungarian honey bees and to develop a detection method.

In my research, I examined bee samples from 2004 preserved at the KATKI institute by light microscopy and PCR. In the spring, April, summer, July and autumn, October of 2010, samples of forager and indoor working bees collected nationally were also examined by light microscopy and PCR. During the sample processing, I developed the practice of microscopic diagnosis of nosemosis, taking into account the method of sample collection. I performed a triplex PCR assay to distinguish infection types without a commercial kit and the automated technology that serves it.

By retrospective examination of the archive, preserved samples, I proved that *Nosema ceranae* has existed in Hungary at least since 2004. The presence of both *Nosema* species in five of the six positive samples may also indicate that *Nosema ceranae* may have been introduced at about this time (not long before) and has not yet displaced *Nosema apis*. I found that there is no cyclicity of the appearance and infection of *Nosema ceranae* in Hungary as a function of the seasons, it is present nationwide in Hungarian bee colonies throughout the year. To the best of my knowledge, I performed a successful triplex PCR assay to isolate domestic *Nosema* species for the first time by replacing a commercial tissue lyser with a conventional vortex mixer and centrifuging a conventional phenol-chloroform mixture for DNA recovery and purification, as well as electrophoresis on a conventional agarose gel. In the diagnosis of nosemosis, I introduced a risk-level semiquantitative assessment method to more accurately determine infection at the bee colony level.

## 7 Irodalomjegyzék

ANDERSON D. L. és TRUEMAN J. W. H. (2000): *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Experimental & applied acarology* **24**. (szám 3). o. 165–189.

ANTÚNEZ K. MARTÍN-HERNÁNDEZ R. PRIETO L. MEANA A. ZUNINO P. és HIGES M. (2009): Immune-suppression in the honeybee (*Apis mellifera*) following infection by *Nosema ceranae* (Microsporidia). *Environmental microbiology* **11**. o. 2284–2290.

BAILEY L. (1953): Effect of fumagillin upon *Nosema apis* (Zander). *Nature* **171**. (szám 4344). o. 212–213.

BAILEY L. (1955): THE EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF NOSEMA DISEASE OF THE HONEY-BEE. *Annals of Applied Biology* **43**. (szám 3). o. 379–389.

BAILEY L. (1967): *Nosema apis* and dysentery of the honeybee. *Journal of Apicultural Research* **6**. (szám 3). o. 121–125.

BAKONYI T. GRABENSTEINER E. KOLODZIEJEK J. RUSVAI M. TOPOLSKA G. RITTER W. és NOWOTNY N. (2002): Phylogenetic analysis of acute bee paralysis virus strains. *Applied and environmental microbiology* **68**. (szám 12). o. 6446–6450.

BÉKÉSI L. (2005): Fertőzés és immunitás a mézelő méheknél (*A. mellifera*). *Magyar Állatorvosok Lapja*. (szám 10.). o. 594-602.

BÉKÉSI L. (2008): A szokatlan méhpusztulásokról. *Magyar Állatorvosok Lapja*. (szám 130.). o. 551-557.

BÉKÉSI L. (2012): A méhek betegségei. *Méhbetegségek*. o. 134.

BERÉNYI O. BAKONYI T. DERAKHSHIFAR I. KÖGLBERGER H. TOPOLSKA G. RITTER W. PECHHACKER H. és NOWOTNY N. (2007): Phylogenetic Analysis of Deformed Wing Virus Genotypes from Diverse Geographic Origins Indicates Recent Global Distribution of the Virus. *Applied and Environmental Microbiology* **73**. (szám 11). o. 3605 LP – 3611.

BORGES D. GUZMAN-NOVOA E. és GOODWIN P. H. (2020): Control of the microsporidian parasite *Nosema ceranae* in honey bees (*Apis mellifera*) using nutraceutical and immuno-stimulatory compounds. *PLOS ONE* **15**. (szám 1). o. e0227484.

BORGES D. GUZMAN-NOVOA E. és GOODWIN P. H. (2021): Effects of prebiotics and probiotics on honey bees (*Apis mellifera*) infected with the microsporidian parasite *Nosema ceranae*. *Microorganisms* **9**. (szám 3). o. 481.

BOTÍAS C. MARTÍN-HERNÁNDEZ R. BARRIOS L. GARRIDO-BAILÓN E. NANETTI A. MEANA A. és HIGES M. (2012): *Nosema* spp. parasitization decreases the

effectiveness of acaricide strips (Apivar®) in treating varroosis of honey bee (*Apis mellifera iberiensis*) colonies. *Environmental Microbiology Reports* **4**. (szám 1). o. 57–65.

BRADBEAR N. (2009): Bees and their role in forest livelihoods: a guide to the services provided by bees and the sustainable harvesting, processing and marketing of their products. *Non-wood Forest Products*. (szám 19).

CANTWELL G. E. E. (1970): Standard methods for counting *Nosema* spores. *Amer Bee J.* o. 222–223: 110.

CHARISTOS L. PARASHOS N. és HATJINA F. (2015): Long term effects of a food supplement HiveAlive™ on honey bee colony strength and *Nosema ceranae* spore counts. *Journal of Apicultural Research* **54**. (szám 5). o. 420–426.

CHAUZAT M.-P. HIGES M. MARTÍN-HERNÁNDEZ R. MEANA A. COUGOULE N. és FAUCON J.-P. (2007): Presence of *Nosema ceranae* in French honey bee colonies. *Journal of Apicultural Research* **46**. (szám 2). o. 127–128.

CHEN Y. EVANS J. D. SMITH I. B. és PETTIS J. S. (2008): *Nosema ceranae* is a long-present and wide-spread microsporidian infection of the European honey bee (*Apis mellifera*) in the United States. *Journal of Invertebrate Pathology* **97**. (szám 2). o. 186–188.

COOPER S. J. (2008): From Claude Bernard to Walter Cannon. Emergence of the concept of homeostasis. *Appetite* **51**. (szám 3). o. 419–427.

CORNMAN R. S. CHEN Y. P. SCHATZ M. C. STREET C. ZHAO Y. DESANY B. EGHOLM M. HUTCHISON S. PETTIS J. S. LIPKIN W. I. és EVANS J. D. (2009): Genomic Analyses of the Microsporidian *Nosema ceranae*, an Emergent Pathogen of Honey Bees. *PLOS Pathogens* **5**. (szám 6). o. e1000466.

CRANE E. (2005): The world's beekeeping - past and present. In: GRAHAM, J. M. szerk.: *The hive and the honey bee*,. Seventh. o. 1–6.

CRNIVEC I. G. O. (2016): Microsporidian *Nosema* spp. As a model gastrointestinal microorganism of carniolan honey bee (*Apis mellifera Carnica*, Pollman, 1879): aspects of spore counting. *Acta Agric Slovenica* **5**. o. 143–147.

CSÁKI T. (2012): Az európai méhcsalád-veszteségek nemzetközi felmérésének magyarországi eredményei 2010/2011. *MÉHÉSZET* **60**. (szám 4). o. 36-38.

CSÁKI T. (2015a): Az ökológiai méhészkedés legjobb hazai gyakorlatainak elterjesztése - tapasztalatcsere térségek és szereplők között, szaktanácsadók és gazdálkodók továbbképzésével. *ÖSTERMELŐ: GAZDÁLKODÓK LAPJA* **19**. (szám 2). o. 103–104.

CSÁKI T. (2015b): Szakmai feladatok az ökológiai méhészetben. o. O. 48 o.

CSÁKI T. (2015c): Méhegészségügy az ökológiai méhészetben. o. O. 48 o.

CSÁKI T. (2016a): Ökológiai atkagyérítési módszerek. MÉHÉSZET **64**. (szám 1). o. 20–21.

CSÁKI T. (2016b): Ökológiai atkagyérítési módszerek 2. MÉHÉSZET **64**. (szám 2). o. 20–21.

CSÁKI T. HELTAI M. MARKOLT F. KOVÁCS B. BÉKÉSI L. LADÁNYI M. PÉNTÉK-ZAKAR E. MEANA A. BOTÍAS C. és MARTÍN-HERNÁNDEZ R. (2015): Permanent prevalence of *Nosema ceranae* in honey bees (*Apis mellifera*) in Hungary. *Acta Veterinaria Hungarica* **63**. (szám 3). o. 358–369.

DAINAT B. EVANS J. D. CHEN Y. P. GAUTHIER L. és NEUMANN P. (2012): Predictive Markers of Honey Bee Colony Collapse. *PLOS ONE* **7**. (szám 2). o. e32151.

DELAPLANE K. S. MAYER D. R. és MAYER D. F. (2000): Crop pollination by bees. o. O.

DELPHY J. (1936): Sous-règne des Protozoaires. In: PERRIER, R. szerk.: *La Faune de la France en tableaux synoptiques illustrés*.

DOUBLET V. POESCHL Y. GOGOL-DÖRING A. ALAUX C. ANNOSCIA D. AURORI C. BARRIBEAU S. M. BEDOYA-REINA O. C. BROWN M. J. F. és BULL J. C. (2017): Unity in defence: honeybee workers exhibit conserved molecular responses to diverse pathogens. *BMC genomics* **18**. (szám 1). o. 1–17.

FABRICIUS J. C. PROFT C. G. (Kopenhagen) MOHR C. F. (Kiel) és STORCH (Kopenhagen) (1792): *Entomologia systematica emandata et aucta. Secundum classes, ordines, genera, species adjectis synonymis, locis, observationibus descriptionibus*. 2. kötet. Hafniae, :

FAIN A. (1970): *Coreitarsonemus* un nouveau genre d'Acariens parasitant la glande odoriférante des Hémiptères Coreidae (Tarsonemidae: Trombidiformes). *Revue de Zoologie et de Botanique Africaines* **82**. o. 315–334.

FENOY S. RUEDA C. HIGES M. MARTÍN-HERNÁNDEZ R. és DEL AGUILA C. (2009): High-Level Resistance of *Nosema ceranae*, a Parasite of the Honeybee, to Temperature and Desiccation. *Applied and Environmental Microbiology* **75**. (szám 21). o. 6886 LP – 6889.

FINGLER B. G. NASH W. T. és SZABO T. I. (1982): A comparison of two techniques for the measurement of *Nosema* disease in honey bee colonies wintered in Alberta, Canada [*Nosema apis*, *Apis mellifera*]. *American Bee Journal* (USA).

FORGÁCH P. BAKONYI T. TAPASZTI Z. NOWOTNY N. és RUSVAI M. (2008): Prevalence of pathogenic bee viruses in Hungarian apiaries: situation before joining the European Union. *Journal of Invertebrate Pathology* **98**. (szám 2). o. 235–238.

FORSGREN E. és FRIES I. (2010): Comparative virulence of *Nosema ceranae* and *Nosema apis* in individual European honey bees. *Veterinary Parasitology* **170**. (szám 3–4). o. 212–217.

FRESENIUS G. (1863): Beiträge zur mykologie. o. O.

FRIES I. (1997): HBP\_Fries\_Protzoa.pdf. In: MORSE, R. A. & FLOTTUM, K. szerk.: *Honey Bee Pests, Predators and Diseases*. o. 59–76.

FRIES I. (2009): *Nosema ceranae* in European honey bees (*Apis mellifera*). *Journal of invertebrate pathology* **103 Suppl.** o. S73-9.

FRIES I. CHAUZAT M.-P. CHEN Y.-P. DOUBLET V. GENERSCH E. GISDER S. HIGES M. MCMAHON D. MARTÍN-HERNÁNDEZ R. NATSOPOULOU M. PAXTON R. RETSCHNIG G. WEBSTER T. és WILLIAMS G. (2013): Standard methods for *Nosema* research. *Journal of Apicultural Research* **52**.

FRIES I. FENG F. DA SILVA A. SLEMENDA S. B. és PIENIAZEK N. J. (1996): *Nosema ceranae* n. sp. (Microspora, Nosematidae), morphological and molecular characterization of a microsporidian parasite of the Asian honey bee *Apis cerana* (Hymenoptera, Apidae). *European Journal of Protistology* **32**. (szám 3). o. 356–365.

FRIES I. MARTÍN R. MEANA A. GARCÍA-PALENCIA P. és HIGES M. (2006): Natural infections of *Nosema ceranae* in European honey bees. *Journal of Apicultural Research* **45**. (szám 4). o. 230–233.

FURGALA B. és HYSER R. A. (1969): Minnesota *Nosema* survey. *Am. Bee J* **109**. o. 460–461.

GÁBOR E. CINEGE G. CSORDÁS G. RUSVAI M. HONTI V. KOLICS B. TÖRÖK T. WILLIAMS M. J. KURUCZ É. és ANDÓ I. (2020): Identification of reference markers for characterizing honey bee (*Apis mellifera*) hemocyte classes. *Developmental & Comparative Immunology*. o. 103701.

GAJGER I. KOZARIC Z. BERTA D. NEJEDLI S. és PETRINEC Z. (2011): Effect of the Herbal preparation Nozevict on the mid-gut structure of honeybees (*Apis mellifera*) infected with *Nosema* sp. Spores. *Veterinary Med* **56**. o. 344–351.

GAJGER I. T. VUGREK O. PINTER L. és PETRINEC Z. (2009): “Nozevit patties” treatment of honey bees (*Apis mellifera*) for the control of *Nosema ceranae* disease. *Apic. Res* **149**. o. 1053–1056.

GALLAI N. SALLES J.-M. SETTELE J. és VAISSIÈRE B. E. (2009): Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological Economics* **68**. (szám 3). o. 810–821.

GIERSCH T. BERG T. GALEA F. és HORNITZKY M. (2009): *Nosema ceranae* infects honey bees (*Apis mellifera*) and contaminates honey in Australia. *Apidologie* **40**. (szám 2). o. 117–123.

GISDER S. HEDTKE K. MÖCKEL N. FRIELITZ M.-C. LINDE A. és GENERSCH E. (2010): Five-year cohort study of *Nosema* spp. in Germany: does climate shape virulence and assertiveness of *Nosema ceranae*? *Appl. Environ. Microbiol.* **76**. (szám 9). o. 3032–3038.

GOBLIRSCH M. (2018): *Nosema ceranae* disease of the honey bee (*Apis mellifera*). *Apidologie* **49**. (szám 1). o. 131–150.

GRASSL J. PENG Y. BAER-IMHOOF B. WELCH M. MILLAR A. H. és BAER B. (2017): Infections with the sexually transmitted pathogen *Nosema apis* trigger an immune response in the seminal fluid of honey bees (*Apis mellifera*). *Journal of Proteome Research* **16**. (szám 1). o. 319–334.

GRAY A. BRODSCHNEIDER R. ADJLANE N. BALLIS A. BRUSBARDIS V. CHARRIÈRE J.-D. CHLEBO R. F. COFFEY M. CORNELISSEN B. AMARO DA COSTA C. CSÁKI T. DAHLE B. DANIHLÍK J. DRAŽIĆ M. M. EVANS G. FEDORIAK M. FORSYTHE I. DE GRAAF D. GREGORC A. JOHANNESSEN J. KAUKO L. KRISTIANSEN P. MARTIKKALA M. MARTÍN-HERNÁNDEZ R. MEDINA-FLORES C. A. MUTINELLI F. PATALANO S. PETROV P. RAUDMETS A. RYZHIKOV V. A. SIMON-DELISO N. STEVANOVIC J. TOPOLSKA G. UZUNOV A. VEJSNAES F. WILLIAMS A. ZAMMIT-MANGION M. és SOROKER V. (2019): Loss rates of honey bee colonies during winter 2017/18 in 36 countries participating in the COLOSS survey, including effects of forage sources. *Journal of Apicultural Research* **58**. (szám 4). o. 479–485.

HIGES M. GARCÍA-PALENCIA P. MARTÍN-HERNÁNDEZ R. és MEANA A. (2007): Experimental infection of *Apis mellifera* honeybees with *Nosema ceranae* (Microsporidia). *Journal of invertebrate pathology* **94**. (szám 3). o. 211–217.

HIGES M. MARTÍN-HERNÁNDEZ R. GARRIDO-BAILÓN E. BOTÍAS C. GARCÍA-PALENCIA P. és MEANA A. (2008a): Regurgitated pellets of *Merops apiaster* as fomites of infective *Nosema ceranae* (Microsporidia) spores. *Environmental Microbiology* **10**. (szám 5). o. 1374–1379.

HIGES M. MARTÍN-HERNÁNDEZ R. GARRIDO-BAILÓN E. GARCÍA-PALENCIA P. és MEANA A. (2008b): Detection of infective *Nosema ceranae* (Microsporidia) spores in corbicular pollen of forager honeybees. *Journal of Invertebrate Pathology* **97**. (szám 1). o. 76–78.

HIGES M. MARTÍN-HERNÁNDEZ R. és MEANA A. (2009a): *Nosema* disease: Lack



of knowledge and work standardization. COLOSS Nosema Workshop.

HIGES M. MARTÍN-HERNÁNDEZ R. és MEANA A. (2010): *Nosema ceranae* in Europe: an emergent type C nosemosis\*. *Apidologie* **41**. (szám 3). o. 375–392.

HIGES M. MARTÍN-HERNÁNDEZ R. BOTÍAS C. BAILÓN E. G. GONZÁLEZ-PORTO A. V BARRIOS L. DEL NOZAL M. J. BERNAL J. L. JIMÉNEZ J. J. és PALENCIA P. G. (2008c): How natural infection by *Nosema ceranae* causes honeybee colony collapse. *Environmental microbiology* **10**. (szám 10). o. 2659–2669.

HIGES M. MARTÍN-HERNÁNDEZ R. GARRIDO-BAILÓN E. GONZÁLEZ-PORTO A. V GARCÍA-PALENCIA P. MEANA A. DEL NOZAL M. J. MAYO R. és BERNAL J. L. (2009b): Honeybee colony collapse due to *Nosema ceranae* in professional apiaries. *Environmental Microbiology Reports* **1**. (szám 2). o. 110–113.

HIGES M. MARTÍN R. és MEANA A. (2006): *Nosema ceranae*, a new microsporidian parasite in honeybees in Europe. *Journal of Invertebrate Pathology* **92**. (szám 2). o. 93–95.

HIGES M. MEANA A. BARTOLOMÉ C. BOTÍAS C. és MARTÍN-HERNÁNDEZ R. (2013): *Nosema ceranae* (Microsporidia), a controversial 21st century honey bee pathogen. *Environmental microbiology reports* **5**. (szám 1). o. 17–29.

HUANG Q. és EVANS J. D. (2020): Targeting the honey bee gut parasite *Nosema ceranae* with siRNA positively affects gut bacteria. *BMC microbiology* **20**. (szám 1). o. 1–6.

HUANG S. K. CSAKI T. DOUBLET V. DUSSAUBAT C. EVANS J. D. GAJDA A. M. GREGORC A. HAMILTON M. C. KAMLER M. LECOCQ A. MUZ M. N. NEUMANN P. ÖZKIRIM A. SCHIESSER A. SOHR A. R. TANNER G. TOZKAR C. Ö. WILLIAMS G. R. WU L. ZHENG H. és CHEN Y. P. (2014): Evaluation of cage designs and feeding regimes for honey bee (Hymenoptera: Apidae) laboratory experiments. *Journal of Economic Entomology* **107**. (szám 1).

HUANG W.-F. JIANG J.-H. CHEN Y.-W. és WANG C.-H. (2007): A *Nosema ceranae* isolate from the honeybee *Apis mellifera*. *Apidologie* **38**. (szám 1). o. 30–37.

INVERNIZZI C. ABUD C. TOMASCO I. H. HARRIET J. RAMALLO G. CAMPÁ J. KATZ H. GARDIOL G. és MENDOZA Y. (2009): Presence of *Nosema ceranae* in honeybees (*Apis mellifera*) in Uruguay. *Journal of Invertebrate Pathology* **101**. (szám 2). o. 150–153.

IZQUIERDO F. HERMIDA J. A. C. FENOY S. MEZO M. GONZÁLEZ-WARLETA M. és DEL AGUILA C. (2011): Detection of microsporidia in drinking water, wastewater and recreational rivers. *Water Research* **45**. (szám 16). o. 4837–4843.

JACK C. J. LUCAS H. M. WEBSTER T. C. és SAGILI R. R. (2016): Colony Level Prevalence and Intensity of *Nosema ceranae* in Honey Bees (*Apis mellifera* L.). *PloS one* **11**.

(szám 9). o. e0163522–e0163522.

KLEE J. BESANA A. M. GENERSCH E. GISDER S. NANETTI A. TAM D. Q. CHINH T. X. PUERTA F. RUZ J. M. KRYGER P. MESSAGE D. HATJINA F. KORPELA S. FRIES I. és PAXTON R. J. (2007): Widespread dispersal of the microsporidian *Nosema ceranae*, an emergent pathogen of the western honey bee, *Apis mellifera*. *Journal of Invertebrate Pathology* **96**. (szám 1). o. 1–10.

KLEIN A. VAISSIÈRE B. CANE J. STEFFAN-DEWENTER I. CUNNINGHAM S. KREMEN C. és TSCHARNTKE T. (2007): Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. 274. kötet. o. O. 303–313 o.

KRISTÓF É. BROSS P. TÓTH P. és NAGY O. (2008): Szemelvények külföldi tapasztalatok alapján 3. o. 317.

LARSSON R. (1999): Identification os Microsporidia. *Acta Protozool.* **38**. (szám 3). o. 161–197.

MALONE A. L. GIACON A. H. és NEWTON R. M. (1995): Comparison of the responses of some New Zealand and Australian honey bees (*Apis mellifera* L) to *Nosema apis* Z. *Apidologie* **26**. (szám 6). o. 495–502.

MARTÍN-HERNÁNDEZ R. BOTÍAS C. BARRIOS L. MARTÍNEZ-SALVADOR A. MEANA A. MAYACK C. és HIGES M. (2011): Comparison of the energetic stress associated with experimental *Nosema ceranae* and *Nosema apis* infection of honeybees (*Apis mellifera*). *Parasitology Research* **109**. (szám 3). o. 605–612.

MARTÍN-HERNÁNDEZ R. MEANA A. GARCÍA-PALENCIA P. MARÍN P. BOTÍAS C. GARRIDO-BAILÓN E. BARRIOS L. és HIGES M. (2009): Effect of Temperature on the Biotic Potential of Honeybee Microsporidia. *Applied and Environmental Microbiology* **75**. (szám 8). o. 2554 LP – 2557.

MARTÍN-HERNÁNDEZ R. MEANA A. PRIETO L. SALVADOR A. M. GARRIDO-BAILÓN E. és HIGES M. (2007): Outcome of colonization of *Apis mellifera* by *Nosema ceranae*. *Appl. Environ. Microbiol.* **73**. (szám 20). o. 6331–6338.

MBURU J. COLLETTE L. GEMMILL B. és HEIN L. G. (2006): Economic valuation of pollination services: review of methods.

MEANA A. MARTÍN-HERNÁNDEZ R. és HIGES M. (2010): The reliability of spore counts to diagnose *Nosema ceranae* infections in honey bees . *Journal of Apicultural Research* **49**. (szám 2). o. 212–214.

NABIAN S. AHMADI K. NAZEM SHIRAZI M. H. és GERAMI SADEGHIAN A. (2011): First Detection of *Nosema ceranae*, a Microsporidian Protozoa of European Honeybees

(*Apis mellifera*) In Iran. *Iranian Journal of Parasitology* **6**. (szám 3). o. 89–95.

NELSON C. M. IHLE K. E. FONDRK M. K. PAGE JR. R. E. és AMDAM G. V (2007): The Gene vitellogenin Has Multiple Coordinating Effects on Social Organization. *PLOS Biology* **5**. (szám 3). o. e62.

OIE (2008): *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. Chapter 3.2.4. Nosemosis of honey bees. o. 744-749.

OLLERTON J. WINFREE R. és TARRANT S. (2011): How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos* **120**. (szám 3). o. 321–326.

ÖRÖSI P. Z. (1957): Méhek között. o. O.

ÖZKIRIM A. SCHIESSER A. és KESKIN N. (2019): Dynamics of *Nosema Apis* and *Nosema Ceranae* Co-Infection Seasonally in Honey Bee (*Apis Mellifera* L.) Colonies. *Journal of Apicultural Science* **63**.

PAXTON J. R. KLEE J. KORPELA S. és FRIES I. (2007): *Nosema ceranae* has infected *Apis mellifera* in Europe since at least 1998 and may be more virulent than *Nosema apis*. *Apidologie* **38**. (szám 6). o. 558–565.

PÉNTEK-ZAKAR E. (2014): A magyarországi mézelőméh-populációkban (*Apis mellifera carnica pannonica* poll.) megjelenő határ menti fajták kimutatása gemetikai és morfológiai módszerekkel. Dissertation, Debreceni Egyetem.

PFIFFNER L. és MULLER A. (2007): FAC TSHEE T Wild bees and pollination. Research Institute of Organic Agriculture FiBL.

POULIN R. (2007): *Evolutionary Ecology of Parasites*. o. O.

RENNIE J. (1921): (4) Isle of Wight Disease in Hive Bees—Acarine Disease: The Organism associated with the Disease—*Tarsonemus woodi*, n. sp. *Earth and Environmental Science Transactions of the Royal Society of Edinburgh* **52**. (szám 4). o. 768–779.

RETSCHNIG G. WILLIAMS G. R. SCHNEEBERGER A. és NEUMANN P. (2017): Cold ambient temperature promotes *Nosema* spp. intensity in honey bees (*Apis mellifera*). *Insects* **8**. (szám 1). o. 20.

SNOW J. W. CEYLAN KOYDEMIR H. KARINCA D. K. LIANG K. TSENG D. és OZCAN A. (2019): Rapid imaging, detection, and quantification of *Nosema ceranae* spores in honey bees using mobile phone-based fluorescence microscopy. *Lab on a Chip* **19**. (szám 5). o. 789–797.

STEVANOVIC J. STANIMIROVIC Z. GENERSCH E. KOVACEVIC S. R. LJUBENKOVIC J. RADAKOVIC M. és ALEKSIC N. (2011): Dominance of *Nosema ceranae* in honey bees in the Balkan countries in the absence of symptoms of colony collapse disorder.

Apidologie **42**. (szám 1). o. 49.

SZALAINÉ MÁTRAY E. (2002): Gazdasági állataink - Fajtatan: Méh. o. O.

SZALAINÉ MÁTRAY E. HARKA L. HEGEDŰY D. ALBERT A. és BÉKÉSI L. (2011): Állattenyésztés és takarmányozás. **60**. (szám 4). o. 363–369.

TANTÓ S. és CZERVÁN G. (2016): A MAGYAR MÉHÉSZETI NEMZETI PROGRAM 2016-2019. 8. kötet. o. O. 55 o.

TAPASZTI Z. FORGÁCH P. KÖVÁGÓ C. BÉKÉSI L. BAKONYI T. és RUSVAI M. (2009): First detection and dominance of *Nosema ceranae* in Hungarian honeybee colonies. *Acta Veterinaria Hungarica* **57**. (szám 3). o. 383–388.

TESOVNIK T. ZORC M. RISTANIĆ M. GLAVINIĆ U. STEVANOVIĆ J. NARAT M. és STANIMIROVIĆ Z. (2020): Exposure of honey bee larvae to thiamethoxam and its interaction with *Nosema ceranae* infection in adult honey bees. *Environmental Pollution* **256**. o. 113443.

TOPOLSKA G. és HARTWIG A. (2005): Diagnosis of *Nosema apis* infection by investigations of two kinds of samples: dead bees and live bees. *Journal of Apicultural Science* **49**. (szám 2). o. 75–79.

VAN DER ZEE R. GÓMEZ-MORACHO T. PISA L. SAGASTUME S. GARCÍA-PALENCIA P. MASIDE X. BARTOLOMÉ C. MARTÍN-HERNÁNDEZ R. és HIGES M. (2014): Virulence and polar tube protein genetic diversity of *Nosema ceranae* (Microsporidia) field isolates from Northern and Southern Europe in honeybees (*Apis mellifera iberiensis*). *Environmental microbiology reports* **6**. (szám 4). o. 401–413.

VARGA J. TUBOLY S. és MÉSZÁROS J. (1999): A háziállatok fertőző betegségei. o. O. 522 o.

WILLIAMS G. R. ALAUX C. COSTA C. CSÁKI T. DOUBLET V. EISENHARDT D. FRIES I. KUHN R. MCMAHON D. P. MEDRZYCKI P. MURRAY T. E. NATSOPOULOU M. E. NEUMANN P. OLIVER R. PAXTON R. J. PERNAL S. F. SHUTLER D. TANNER G. VAN DER STEEN J. J. M. és BRODSCHNEIDER R. (2013): Standard methods for maintaining adult *Apis mellifera* in cages under in vitro laboratory conditions. *Journal of Apicultural Research* **52**. (szám 1).

WILLIAMS G. R. SAMPSON M. A. SHUTLER D. és ROGERS R. E. L. (2008a): Does fumagillin control the recently detected invasive parasite *Nosema ceranae* in western honey bees (*Apis mellifera*)? *Journal of invertebrate pathology* **99**. (szám 3). o. 342–344.

WILLIAMS G. R. SHAFER A. B. A. ROGERS R. E. L. SHUTLER D. és STEWART D. T. (2008b): First detection of *Nosema ceranae*, a microsporidian parasite of European honey

bees (*Apis mellifera*), in Canada and central USA. *Journal of Invertebrate Pathology* **97**. (szám 2). o. 189–192.

WILLIAMS G. R. SHUTLER D. BURGHER-MACLELLAN K. L. és ROGERS R. E. L. (2014): Infra-Population and -Community Dynamics of the Parasites *Nosema apis* and *Nosema ceranae*, and Consequences for Honey Bee (*Apis mellifera*) Hosts. *PLOS ONE* **9**. (szám 7). o. e99465.

WU J. Y. SMART M. D. ANELLI C. M. és SHEPPARD W. S. (2012): Honey bees (*Apis mellifera*) reared in brood combs containing high levels of pesticide residues exhibit increased susceptibility to *Nosema* (Microsporidia) infection. *Journal of invertebrate pathology* **109**. (szám 3). o. 326–329.

ZANDER E. (1909): Tierische Parasiten als Krankheitserreger bei der Biene. *Münchener Bienenzeitung* **31**. o. 196–204.

## 8 Mellékletek

### A mérések eredménytáblái

8. táblázat: A tavaszi mintagyűjtésből származó minták CAR-ban rögzített adatai.

minta s.sz.	méhcsalád	minta típus	mikr. detekt.	PCR detekt.	minta s.sz.	méhcsalád	minta típus	mikr. detekt.	PCR detekt.	minta s.sz.	méhcsalád	minta típus	mikr. detekt.	PCR detekt.
434	A	kinti	+	CER	478	B	kinti	+	CER	522	C	kinti	+	CER
435	A	benti	+	CER	479	B	benti	+	CER	523	C	benti	+	CER
436	B	kinti	+	CER	480	C	kinti	+	CER	524	A	kinti	-	CER
437	B	benti	-	CER	481	C	benti	+	CER	525	A	benti	-	NEG
438	C	kinti	+	CER	482	A	kinti	+	APIS	526	B	kinti	-	NEG
439	C	benti	+	CER	483	A	benti	-	NEG	527	B	benti	-	CER
440	A	kinti	+	CER	484	B	kinti	+	CER	528	C	kinti	+	CER
441	A	benti	+	CER	485	B	benti	-	NEG	529	C	benti	+	CER
442	B	kinti	+	CER	486	C	kinti	-	NEG	530	A	kinti	+	CER
443	B	benti	+	CER	487	C	benti	+	CER	531	A	benti	+	CER
444	C	kinti	+	CER	488	A	kinti	+	CER	532	B	kinti	+	CER
445	C	benti	+	CER	489	A	benti	+	CER	533	B	benti	+	CER
446	A	kinti	+	CER	490	B	kinti	+	CER	534	C	kinti	+	CER
447	A	benti	+	CER	491	B	benti	+	CER	535	C	benti	+	CER
448	B	kinti	+	CER	492	C	kinti	+	CER	536	A	kinti	+	CER
449	B	benti	+	CER	493	C	benti	+	CER	537	A	benti	+	CER
450	C	kinti	+	CER	494	A	kinti	+	CER	538	B	kinti	-	NEG
451	C	benti	+	CER	495	A	benti	+	CER	539	B	benti	-	NEG
452	A	kinti	+	CER	496	B	kinti	-	CER	540	C	kinti	+	CER
453	A	benti	+	CER	497	B	benti	-	CER	541	C	benti	+	CER
454	B	kinti	+	CER	498	C	kinti	+	CER	542	A	kinti	-	NEG
455	B	benti	-	NEG	499	C	benti	+	CER	543	A	benti	-	NEG
456	C	kinti	-	NEG	500	A	kinti	+	CER	544	B	kinti	+	CER
457	C	benti	-	NEG	501	A	benti	-	NEG	545	B	benti	+	CER
458	A	kinti	+	CER	502	B	kinti	+	CER	546	C	kinti	+	CER
459	A	benti	+	CER	503	B	benti	+	CER	547	C	benti	+	CER
460	B	kinti	+	CER	504	C	kinti	+	CER	548	A	kinti	-	NEG
461	B	benti	-	CER	505	C	benti	+	CER	549	A	benti	-	NEG
462	C	kinti	+	CER	506	A	kinti	+	CER	550	B	kinti	+	CER
463	C	benti	+	CER	507	A	benti	-	NEG	551	B	benti	-	NEG
464	A	kinti	+	CER	508	B	kinti	+	CER	552	C	kinti	-	NEG
465	A	benti	+	CER	509	B	benti	-	NEG	553	C	benti	-	NEG
466	B	kinti	+	CER	510	C	kinti	+	CER	554	A	kinti	+	CER
467	B	benti	+	CER	511	C	benti	-	NEG	555	A	benti	-	NEG
468	C	kinti	+	CER	512	A	kinti	+	CER	556	B	kinti	+	CER
469	C	benti	+	CER	513	A	benti	+	CER	557	B	benti	-	NEG
470	A	kinti	+	CER	514	B	kinti	+	CER	558	C	kinti	-	NEG
471	A	benti	+	CER	515	B	benti	+	CER	559	C	benti	+	CER
472	B	kinti	+	CER	516	C	kinti	+	CER	560	A	kinti	+	CER
473	B	benti	+	CER	517	C	benti	+	CER	561	A	benti	+	CER
474	C	kinti	+	CER	518	A	kinti	-	NEG	562	B	kinti	+	CER
475	C	benti	+	CER	519	A	benti	+	CER	563	B	benti	+	CER
476	A	kinti	+	CER	520	B	kinti	+	CER	564	C	kinti	+	CER
477	A	benti	+	CER	521	B	benti	+	CER	565	C	benti	+	CER

**9. táblázat: A tavaszi mintagyűjtésből származó minták CAR-ban rögzített adatai.**

minta s.sz.	méhcsalád	minta típus	mikr. detekt.	PCR detekt.	minta s.sz.	méhcsalád	minta típus	mikr. detekt.	PCR detekt.	minta s.sz.	méhcsalád	minta típus	mikr. detekt.	PCR detekt.
566	A	kinti	+	MIX	610	B	kinti	+	CER	654	C	kinti	+	CER
567	A	benti	+	MIX	611	B	benti	+	CER	655	C	benti	+	CER
568	B	kinti	+	MIX	612	C	kinti	+	CER	656	A	kinti	+	CER
569	B	benti	+	MIX	613	C	benti	+	CER	657	A	benti	+	CER
570	C	kinti	+	MIX	614	A	kinti	+	CER	658	B	kinti	+	CER
571	C	benti	+	MIX	615	A	benti	+	CER	659	B	benti	+	CER
572	A	kinti	+	CER	616	B	kinti	+	CER	660	C	kinti	+	CER
573	A	benti	-	NEG	617	B	benti	+	CER	661	C	benti	+	CER
574	B	kinti	+	CER	618	C	kinti	+	CER	662	A	kinti	+	CER
575	B	benti	-	NEG	619	C	benti	+	CER	663	A	benti	+	CER
576	C	kinti	-	NEG	620	A	kinti	-	CER	664	B	kinti	+	CER
577	C	benti	-	NEG	621	A	benti	-	CER	665	B	benti	+	CER
578	A	kinti	-	NEG	622	B	kinti	-	CER	666	C	kinti	+	CER
579	A	benti	+	CER	623	B	benti	-	CER	667	C	benti	+	CER
580	B	kinti	+	CER	624	C	kinti	+	CER	668	A	kinti	+	CER
581	B	benti	+	CER	625	C	benti	+	CER	669	A	benti	+	CER
582	C	kinti	-	NEG	626	A	kinti	-	CER	670	B	kinti	+	CER
583	C	benti	-	NEG	627	A	benti	-	CER	671	B	benti	+	CER
584	A	kinti	+	CER	628	B	kinti	+	CER	672	C	kinti	+	CER
585	A	benti	+	CER	629	B	benti	+	CER	673	C	benti	+	CER
586	B	kinti	+	CER	630	C	kinti	+	CER	674	A	kinti	+	CER
587	B	benti	+	CER	631	C	benti	+	CER	675	A	benti	+	CER
588	C	kinti	-	CER	632	A	kinti	+	CER	676	B	kinti	+	CER
589	C	benti	-	CER	633	A	benti	+	CER	677	B	benti	+	CER
590	A	kinti	+	CER	634	B	kinti	+	CER	678	C	kinti	+	CER
591	A	benti	+	CER	635	B	benti	+	CER	679	C	benti	+	CER
592	B	kinti	-	CER	636	C	kinti	+	MIX	680	A	kinti	+	CER
593	B	benti	-	CER	637	C	benti	+	MIX	681	A	benti	+	CER
594	C	kinti	+	CER	638	A	kinti	+	MIX	682	B	kinti	+	CER
595	C	benti	+	CER	639	A	benti	+	CER	683	B	benti	+	CER
596	A	kinti	+	CER	640	B	kinti	+	CER	684	C	kinti	+	CER
597	A	benti	+	CER	641	B	benti	+	CER	685	C	benti	+	CER
598	B	kinti	+	CER	642	C	kinti	+	CER	686	A	kinti	+	CER
599	B	benti	+	CER	643	C	benti	+	CER	687	A	benti	+	CER
600	C	kinti	+	CER	644	A	kinti	+	CER	688	B	kinti	+	CER
601	C	benti	+	CER	645	A	benti	+	CER	689	B	benti	+	CER
602	A	kinti	+	CER	646	B	kinti	+	CER	690	C	kinti	+	CER
603	A	benti	+	CER	647	B	benti	+	CER	691	C	benti	+	CER
604	B	kinti	-	NEG	648	C	kinti	+	CER	692	A	kinti	+	CER
605	B	benti	+	CER	649	C	benti	+	CER	693	A	benti	+	CER
606	C	kinti	+	CER	650	A	kinti	+	CER	694	B	kinti	+	CER
607	C	benti	-	NEG	651	A	benti	+	CER	695	B	benti	+	CER
608	A	kinti	+	CER	652	B	kinti	+	CER	696	C	kinti	+	CER
609	A	benti	+	CER	653	B	benti	+	CER	697	C	benti	+	CER

**10. táblázat: A nyári mintagyűjtésből származó minták CAR-ban rögzített adatai.**

minta s.sz.	méhcsalád	minta típus	mikr. detekt.	PCR detekt.	minta s.sz.	méhcsalád	minta típus	mikr. detekt.	PCR detekt.	minta s.sz.	méhcsalád	minta típus	mikr. detekt.	PCR detekt.
1397	A	kinti	+	CER	1441	B	kinti	+	CER	1485	C	kinti	+	CER
1398	A	benti	+	CER	1442	B	benti	+	CER	1486	C	benti	+	CER
1399	B	kinti	+	CER	1443	C	kinti	+	CER	1487	A	kinti	+	CER
1400	B	benti	+	CER	1444	C	benti	+	CER	1488	A	benti	+	CER
1401	C	kinti	+	CER	1445	A	kinti	+	CER	1489	B	kinti	+	CER
1402	C	benti	+	CER	1446	A	benti	+	CER	1490	B	?	?	?
1403	A	kinti	+	MIX	1447	B	kinti	+	CER	1491	C	kinti	+	CER
1404	A	benti	+	MIX	1448	B	benti	+	CER	1492	C	?	?	?
1405	B	kinti	+	MIX	1449	C	kinti	+	CER	1493	A	kinti	+	CER
1406	B	benti	+	CER	1450	C	benti	+	CER	1494	A	benti	+	CER
1407	C	kinti	+	CER	1451	A	kinti	+	CER	1495	B	kinti	+	CER
1408	C	benti	+	CER	1452	A	benti	+	CER	1496	B	benti	+	CER
1409	A	kinti	+	CER	1453	B	kinti	+	CER	1497	C	kinti	+	CER
1410	A	benti	+	CER	1454	B	benti	+	CER	1498	C	benti	+	CER
1411	B	kinti	+	CER	1455	C	kinti	+	CER	1499	A	kinti	+	CER
1412	B	benti	+	CER	1456	C	benti	+	CER	1500	A	benti	+	CER
1413	C	kinti	+	CER	1457	A	kinti	-	CER	1501	B	kinti	+	CER
1414	C	benti	+	CER	1458	A	benti	-	CER	1502	B	benti	+	CER
1415	A	kinti	+	CER	1459	B	kinti	+	CER	1503	C	kinti	+	CER
1416	A	benti	+	CER	1460	B	benti	+	CER	1504	C	?	?	?
1417	B	kinti	+	CER	1461	C	kinti	+	CER					
1418	B	benti	+	CER	1462	C	benti	+	CER					
1419	C	kinti	+	CER	1463	A	kinti	+	CER					
1420	C	benti	+	CER	1464	A	benti	+	CER					
1421	A	kinti	+	CER	1465	B	kinti	+	CER					
1422	A	benti	+	CER	1466	B	benti	+	CER					
1423	B	kinti	+	CER	1467	C	kinti	+	CER					
1424	B	benti	+	CER	1468	C	benti	+	CER					
1425	C	kinti	+	CER	1469	A	kinti	+	CER					
1426	C	benti	+	CER	1470	A	benti	+	CER					
1427	A	kinti	+	CER	1471	B	kinti	+	CER					
1428	A	benti	+	CER	1472	B	benti	+	CER					
1429	B	kinti	+	CER	1473	C	kinti	+	CER					
1430	B	benti	+	CER	1474	C	benti	-	NEG					
1431	C	kinti	+	CER	1475	A	kinti	+	CER					
1432	C	benti	+	CER	1476	A	benti	+	CER					
1433	A	kinti	+	CER	1477	B	kinti	+	CER					
1434	A	benti	+	CER	1478	B	benti	+	CER					
1435	B	kinti	+	CER	1479	C	kinti	+	CER					
1436	B	benti	+	CER	1480	C	benti	+	CER					
1437	C	kinti	+	CER	1481	A	kinti	+	CER					
1438	C	benti	+	CER	1482	A	benti	-	CER					
1439	A	kinti	+	CER	1483	B	kinti	+	CER					
1440	A	benti	+	CER	1484	B	benti	+	CER					



**11. táblázat: A nyári mintagyűjtésből származó minták RET-ben rögzített adatai.**

minta s.sz.	méhcsalád	minta típus	mikr. detekt.	PCR detekt.	minta s.sz.	méhcsalád	minta típus	mikr. detekt.	PCR detekt.	minta s.sz.	méhcsalád	minta típus	mikr. detekt.	PCR detekt.
1	A	kinti	+	CER	44	A	benti	-	NEG	87	B	kinti	+	CER
2	A	benti	+	CER	45	B	kinti	+	CER	88	B	benti	+	CER
3	B	kinti	+	CER	46	B	benti	+	CER	89	C	kinti	+	CER
4	B	benti	+	CER	47	C	kinti	+	CER	90	C	benti	+	CER
5	C	kinti	+	CER	48	C	benti	+	CER	91	A	kinti	+	CER
6	C	benti	+	CER	49	A	kinti	+	CER	92	A	benti	+	CER
7	A	kinti	+	CER	50	A	benti	+	CER	93	B	kinti	+	CER
8	A	benti	+	CER	51	B	kinti	-	NEG	94	B	benti	+	MIX
9	B	kinti	+	CER	52	B	benti	-	NEG	95	C	kinti	+	CER
10	B	benti	+	CER	53	C	kinti	+	CER	96	C	benti	+	CER
11	C	kinti	+	CER	54	C	benti	+	CER	97	A	kinti	+	CER
12	C	benti	+	CER	55	A	kinti	+	CER	98	A	benti	+	CER
13	A	kinti	+	CER	56	A	benti	+	CER	99	B	kinti	+	CER
14	A	benti	-	NEG	57	B	kinti	+	CER	100	B	benti	-	NEG
15	B	kinti	+	CER	58	B	benti	+	CER	101	C	kinti	-	CER
16	B	benti	-	NEG	59	C	kinti	+	CER	102	C	benti	-	NEG
17	C	kinti	+	CER	60	C	benti	+	CER	103	A	kinti	+	CER
18	C	benti	+	CER	61	A	kinti	+	CER	104	A	benti	+	CER
19	A	kinti	+	CER	62	A	benti	+	CER	105	B	kinti	+	CER
20	A	benti	+	CER	63	B	kinti	+	CER	106	B	benti	+	CER
21	B	kinti	+	CER	64	B	benti	+	CER	107	C	kinti	+	CER
22	B	benti	+	CER	65	C	kinti	+	CER	108	C	benti	+	CER
23	C	kinti	+	CER	66	C	benti	+	CER	109	A	kinti	+	CER
24	C	benti	+	CER	67	A	kinti	+	CER	110	A	benti	+	CER
25	A	kinti	+	CER	68	A	benti	+	CER	111	B	kinti	+	CER
26	A	benti	+	CER	69	B	kinti	+	CER	112	B	benti	+	CER
27	B	kinti	+	CER	70	B	benti	+	CER	113	C	kinti	+	CER
28	B	benti	+	CER	71	C	kinti	+	CER	114	C	benti	+	CER
29	C	kinti	+	CER	72	C	benti	+	CER	115	A	kinti	+	CER
30	C	benti	+	CER	73	A	kinti	+	CER	116	A	benti	+	CER
31	A	kinti	+	CER	74	A	benti	+	CER	117	B	kinti	+	CER
32	A	benti	+	CER	75	B	kinti	+	CER	118	B	benti	+	CER
33	B	kinti	+	CER	76	B	benti	+	CER	119	C	kinti	+	CER
34	B	benti	+	CER	77	C	kinti	+	CER	120	C	benti	+	CER
35	C	kinti	+	CER	78	C	benti	+	CER	121	A	kinti	+	CER
36	C	benti	+	CER	79	A	kinti	+	CER	122	A	benti	+	CER
37	A	kinti	+	CER	80	A	benti	+	CER	123	B	kinti	+	CER
38	A	benti	+	CER	81	B	kinti	-	NEG	124	B	benti	+	CER
39	B	kinti	+	CER	82	B	benti	-	NEG	125	C	kinti	+	CER
40	B	benti	+	CER	83	C	kinti	+	CER	126	C	benti	+	CER
41	C	kinti	+	CER	84	C	benti	+	CER	127	A	kinti	+	CER
42	C	benti	+	CER	85	A	kinti	+	CER	128	A	benti	+	CER
43	A	kinti	-	CER	86	A	benti	+	CER	129	B	kinti	+	CER

12. táblázat: Az őszi mintagyűjtésből származó minták RET-ben rögzített adatai.

minta s.sz.	méhsalád típus	minta típus	mikr. detekt.	PCR detekt.	fertőzött méhegyedek aránya	méhegyedre jutó átlag spóraszám
199	A	kinti	+	CER	43%	4 161 120
200	A	benti	+	CER	14%	399 840
201	B	kinti	+	CER	31%	2 091 840
202	B	benti	-	NEG	0%	0
203	C	kinti	+	CER	37%	2 694 240
204	C	benti	-	NEG	0%	0
205	A	kinti	+	CER	61%	4 967 760
206	A	benti	+	CER	20%	688 320
207	B	kinti	+	CER	44%	1 491 840
208	B	benti	+	CER	4%	287 520
209	C	kinti	+	CER	37%	1 659 840
210	C	benti	-	CER	0%	0
211	A	kinti	-	NEG	0%	0
212	A	benti	-	NEG	0%	0
213	B	kinti	+	CER	31%	2 821 440
214	B	benti	-	NEG	0%	0
215	C	kinti	-	CER	70%	5 669 760
216	C	benti	-	CER	37%	2 817 360
217	A	kinti	+	CER	88%	10 804 080
218	A	benti	+	CER	41%	1 072 560
219	B	kinti	+	CER	47%	2 189 040
220	B	benti	+	CER	7%	268 080
221	C	kinti	+	CER	57%	4 235 760
222	C	benti	+	CER	40%	2 314 080
223	A	kinti	+	CER	89%	11 924 640
224	A	benti	+	CER	24%	353 520
225	B	kinti	+	CER	60%	2 897 520
226	B	benti	+	CER	27%	988 680
227	C	kinti	+	CER	67%	5 465 040
228	C	benti	+	CER	13%	2 075 040
229	A	kinti	+	CER	73%	3 278 760
230	A	benti	+	CER	25%	1 513 200
231	B	kinti	+	CER	79%	3 860 880
232	B	benti	+	CER	46%	875 280
233	C	kinti	-	CER	82%	3 046 560
234	C	benti	-	CER	14%	214 560
235	A	kinti	+	CER	47%	3 027 360
236	A	benti	+	CER	3%	518 400
237	B	kinti	+	CER	37%	1 850 640
238	B	benti	+	CER	17%	1 107 120
239	C	kinti	+	CER	37%	2 921 040
240	C	benti	+	CER	10%	899 520
241	A	kinti	+	CER	60%	2 773 200
242	A	benti	+	CER	10%	1 118 880
243	B	kinti	+	CER	56%	3 590 880
244	B	benti	+	CER	19%	1 113 000
245	C	kinti	+	CER	39%	1 587 840
246	C	benti	-	NEG	0%	0
247	A	kinti	+	CER	70%	3 890 880
248	A	benti	+	CER	13%	891 840
249	B	kinti	+	CER	37%	7 468 080
250	B	benti	+	CER	7%	633 840
251	C	kinti	+	CER	57%	1 480 800
252	C	benti	+	CER	20%	314 640
253	A	kinti	+	CER	13%	533 520
254	A	benti	-	CER	0%	0
255	B	kinti	+	CER	50%	1 481 040
256	B	benti	+	CER	13%	749 280
257	C	kinti	+	CER	100%	6 991 680
258	C	benti	+	CER	17%	926 880

13. táblázat: Az őszi mintagyűjtésből származó minták RET-ben rögzített adatai.

minta s.sz.	család	minta típus	mikr. detekt.	PCR detekt.	fertőzött egyedek aránya	méhgyedre jutó átlag spóraszám
259	A	kinti	+	CER	59%	1 947 840
260	A	benti	-	CER	8%	142 560
261	B	kinti	+	CER	47%	2 082 600
262	B	benti	+	CER	14%	778 800
263	C	kinti	+	CER	69%	3 062 880
264	C	benti	+	CER	7%	207 120
265	A	kinti	+	CER	80%	2 669 280
266	A	benti	+	CER	10%	935 040
267	B	kinti	+	CER	53%	2 561 040
268	B	benti	+	CER	23%	794 880
269	C	kinti	+	CER	53%	7 553 040
270	C	benti	+	CER	50%	3 170 880
271	A	kinti	+	CER	43%	3 459 840
272	A	benti	+	CER	40%	1 995 840
273	B	kinti	+	CER	50%	5 081 040
274	B	benti	+	CER	14%	1 181 040
275	C	kinti	+	CER	57%	3 160 080
276	C	benti	+	CER	20%	1 052 880
277	A	kinti	+	CER	55%	8 675 760
278	A	benti	+	CER	13%	2 947 440
279	B	kinti	+	CER	90%	6 928 080
280	B	benti	+	CER	10%	507 360
281	C	kinti	+	CER	73%	7 910 880
282	C	benti	+	CER	27%	1 154 880
283	A	kinti	+	CER	57%	10 526 640
284	A	benti	+	CER	4%	1 010 640
285	B	kinti	+	CER	63%	3 275 280
286	B	benti	+	CER	13%	531 840
287	C	kinti	+	CER	77%	4 546 560
288	C	benti	+	CER	17%	1 013 160
289	A	kinti	+	CER	37%	3 146 880
290	A	benti	-	NEG	0%	0
291	B	kinti	+	CER	73%	7 616 640
292	B	benti	+	CER	13%	866 880
293	C	kinti	+	CER	32%	5 069 280
294	C	benti	+	CER	21%	386 880
295	A	kinti	+	CER	20%	2 810 640
296	A	benti	+	CER	27%	705 840
297	B	kinti	+	CER	37%	2 200 080
298	B	benti	+	CER	20%	626 880
299	C	kinti	-	NEG	0%	0
300	C	benti	-	NEG	0%	0
301	A	kinti	+	CER	71%	8 134 560
302	A	benti	+	CER	7%	686 640
303	B	kinti	+	CER	77%	8 666 640
304	B	benti	+	CER	27%	4 130 880
305	C	kinti	+	CER	36%	9 386 760
306	C	benti	+	CER	13%	650 640
307	A	kinti	+	CER	58%	9 388 080
308	A	benti	+	CER	10%	2 785 680
309	B	kinti	+	CER	73%	18 450 480
310	B	benti	+	CER	30%	4 613 040
311	C	kinti	+	CER	50%	3 155 280
312	C	benti	+	CER	10%	170 880
313	A	kinti	+	CER	72%	7 493 280
314	A	benti	+	CER	23%	1 944 000
315	B	kinti	+	CER	65%	3 239 760
316	B	benti	+	CER	7%	195 840
317	C	kinti	+	CER	77%	7 553 280
318	C	benti	+	CER	30%	2 081 280

14. táblázat: Az őszi mintagyűjtésből származó minták RET-ben rögzített adatai.

minta s.sz.	család	minta típus	mikr. detekt.	PCR detekt.	fertőzött egyedek aránya	méhegyedre jutó átlag spóraszám
319	A	kinti	-	NEG	0%	0
320	A	benti	-	NEG	0%	0
321	B	kinti	+	CER	47%	10 798 080
322	B	benti	+	MIX	37%	1 949 280
323	C	kinti	+	CER	73%	2 069 280
324	C	benti	+	CER	27%	213 840
325	A	kinti	+	CER	76%	2 068 560
326	A	benti	+	CER	16%	203 760
327	B	kinti	-	NEG	0%	0
328	B	benti	+	APIS	13%	547 200
329	C	kinti	+	CER	57%	4 469 280
330	C	benti	+	CER	27%	281 280
331	A	kinti	+	CER	87%	5 908 080
332	A	benti	+	CER	13%	290 880
333	B	kinti	+	CER	67%	4 588 080
334	B	benti	+	CER	47%	1 893 840
335	C	kinti	+	CER	67%	5 561 040
336	C	benti	+	CER	57%	3 161 400
337	A	kinti	+	CER	18%	2 249 040
338	A	benti	5	NEG	0%	0
339	B	kinti	+	CER	43%	8 074 440
340	B	benti	+	CER	13%	1 767 360
341	C	kinti	+	CER	13%	554 880
342	C	benti	+	CER	7%	42 720
343	A	kinti	+	CER	80%	9 944 880
344	A	benti	+	CER	50%	1 970 760
345	B	kinti	+	CER	57%	2 864 880
346	B	benti	+	CER	33%	2 810 880
347	C	kinti	+	CER	33%	9 928 080
348	C	benti	+	CER	7%	1 478 760
349	A	kinti	+	CER	97%	14 810 880
350	A	benti	+	CER	57%	3 868 080
351	B	kinti	+	CER	27%	3 148 320
352	B	benti	+	CER	27%	510 240
353	C	kinti	+	CER	53%	2 998 440
354	C	benti	+	CER	33%	4 949 400
355	A	kinti	+	CER	47%	1 481 520
356	A	benti	+	CER	3%	869 280
357	B	kinti	+	CER	67%	2 946 720
358	B	benti	+	CER	37%	2 618 880
359	C	kinti	+	CER	87%	4 348 080
360	C	benti	-	CER	41%	1 894 560
361	A	kinti	+	CER	13%	1 134 720
362	A	benti	+	CER	0%	0
363	B	kinti	+	CER	43%	8 789 520
364	B	benti	+	CER	5%	2 896 080
365	C	kinti	+	CER	47%	5 428 080
366	C	benti	+	CER	3%	1 481 280
367	A	kinti	-	NEG	0%	0
368	A	benti	-	NEG	0%	0
369	B	kinti	+	CER	45%	1 886 880
370	B	benti	+	CER	7%	298 560
371	C	kinti	+	CER	60%	3 238 080
372	C	benti	+	CER	27%	989 520
373	A	kinti	+	CER	33%	1 762 080
374	A	benti	+	CER	20%	719 760
375	B	kinti	+	CER	77%	3 269 760
376	B	benti	+	CER	23%	281 760
377	C	kinti	+	CER	73%	2 139 120
378	C	benti	+	CER	33%	1 588 080

15. táblázat: Az őszi mintagyűjtésből származó minták RET-ben rögzített adatai.

minta s.sz.	család	minta típus	mikr. detekt.	PCR detekt.	fertőzött egyedek aránya	méhegyedre jutó átlag spóraszám
379	A	kinti	-	NEG	0%	0
380	A	benti	+	APIS	7%	294 240
381	B	kinti	+	CER	13%	2 246 880
382	B	benti	+	CER	20%	518 880
383	C	kinti	+	CER	15%	2 331 840
384	C	benti	+	CER	30%	1 590 720
385	A	kinti	+	CER	83%	2 849 280
386	A	benti	+	CER	57%	4 118 640
387	B	kinti	+	CER	97%	3 990 720
388	B	benti	+	CER	40%	2 694 240
389	C	kinti	+	CER	70%	3 451 680
390	C	benti	+	CER	30%	2 331 840
391	A	kinti	+	CER	41%	4 469 520
392	A	benti	+	CER	4%	257 520
393	B	kinti	+	CER	39%	1 797 840
394	B	benti	+	CER	3%	641 520
395	C	kinti	+	CER	27%	1 631 280
396	C	benti	-	NEG	0%	0
397	A	kinti	+	CER	17%	4 108 080
398	A	benti	+	CER	30%	1 503 840
399	B	kinti	-	NEG	0%	0
400	B	benti	-	NEG	0%	0
401	C	kinti	+	CER	77%	8 188 080
402	C	benti	+	CER	37%	3 064 080
403	A	kinti	+	CER	100%	14 336 640
404	A	benti	+	CER	80%	10 732 080
405	B	kinti	+	CER	77%	9 929 280
406	B	benti	+	CER	27%	2 918 880
407	C	kinti	+	CER	75%	2 810 880
408	C	benti	+	CER	30%	1 541 280
409	A	kinti	+	CER	44%	8 215 440
410	A	benti	+	CER	30%	3 890 760
411	B	kinti	+	CER	27%	6 748 080
412	B	benti	+	CER	30%	3 477 840
413	C	kinti	+	CER	50%	7 000 320
414	C	benti	+	CER	30%	5 812 320
415	A	kinti	+	CER	57%	10 361 760
416	A	benti	+	CER	30%	7 134 480
417	B	kinti	+	CER	90%	11 094 960
418	B	benti	+	CER	47%	6 414 600
419	C	kinti	+	CER	77%	10 145 400
420	C	benti	+	CER	60%	6 281 160
421	A	kinti	+	CER	53%	11 224 080
422	A	benti	+	CER	10%	1 721 160
423	B	kinti	+	CER	44%	1 625 040
424	B	benti	+	CER	10%	869 280
425	C	kinti	+	CER	62%	9 389 520
426	C	benti	+	CER	10%	652 080
427	A	kinti	+	CER	5%	988 560
428	A	benti	+	CER	12%	2 094 480
429	B	kinti	+	CER	64%	10 721 400
430	B	benti	+	CER	10%	4 155 840
431	C	kinti	+	CER	29%	11 789 520
432	C	benti	+	CER	57%	5 189 280
433	A	kinti	-	CER	77%	9 415 920
434	A	benti	+	CER	37%	2 813 280
435	B	kinti	+	CER	67%	14 212 320
436	B	benti	+	CER	47%	8 681 520
437	C	kinti	+	CER	83%	10 478 880
438	C	benti	+	CER	37%	4 670 880

16. táblázat: Az őszi mintagyűjtésből származó minták RET-ben rögzített adatai.

minta s.sz.	család	minta típus	mikr. detekt.	PCR detekt.	fertőzött egyedek aránya	méhgyedre jutó átlag spóraszám
439	A	kinti	+	CER	30%	5 798 880
440	A	benti	+	CER	7%	2 867 280
441	B	kinti	+	CER	58%	2 918 880
442	B	benti	+	CER	20%	1 491 840
443	C	kinti	+	CER	18%	1 078 440
444	C	benti	+	CER	30%	1 625 040
445	A	kinti	+	CER	97%	2 081 520
446	A	benti	+	CER	67%	5 398 320
447	B	kinti	+	CER	60%	5 092 080
448	B	benti	+	CER	30%	2 572 080
449	C	kinti	+	CER	47%	2 943 840
450	C	benti	+	CER	37%	3 416 640
451	A	kinti	+	CER	67%	16 121 520
452	A	benti	+	CER	47%	9 041 040
453	B	kinti	+	CER	90%	11 692 320
454	B	benti	+	CER	53%	4 108 080
455	C	kinti	+	CER	71%	7 001 280
456	C	benti	+	CER	55%	1 721 280
457	A	kinti	+	CER	35%	2 810 640
458	A	benti	+	CER	4%	1 115 280
459	B	kinti	+	CER	61%	1 961 040
460	B	benti	+	CER	20%	1 829 040
461	C	kinti	+	CER	37%	4 108 080
462	C	benti	+	CER	7%	990 480
463	A	kinti	+	CER	87%	4 011 360
464	A	benti	+	CER	40%	3 388 080
465	B	kinti	+	CER	67%	3 310 320
466	B	benti	+	CER	43%	3 206 880
467	C	kinti	+	CER	40%	2 548 080
468	C	benti	+	CER	10%	1 382 880
469	A	kinti	+	CER	17%	281 280
470	A	benti	+	CER	17%	1 707 120
471	B	kinti	-	NEG	0%	0
472	B	benti	-	NEG	0%	0
473	C	kinti	-	NEG	0%	0
474	C	benti	-	NEG	0%	0
475	A	kinti	+	CER	77%	17 190 720
476	A	benti	+	CER	47%	5 978 880
477	B	kinti	+	CER	93%	4 109 040
478	B	benti	+	CER	53%	4 118 760
479	C	kinti	+	CER	50%	10 514 760
480	C	benti	+	CER	20%	5 066 880
481	A	kinti	+	CER	60%	15 389 520
482	A	benti	+	CER	30%	8 150 880
483	B	kinti	+	CER	83%	11 143 680
484	B	benti	+	CER	63%	3 582 480
485	C	kinti	+	CER	67%	16 744 080
486	C	benti	+	CER	10%	2 189 040
487	A	kinti	+	CER	10%	2 570 880
488	A	benti	+	CER	10%	1 072 080
489	B	kinti	+	CER	10%	1 673 040
490	B	benti	+	CER	10%	1 178 880
491	C	kinti	+	CER	10%	2 189 280
492	C	benti	+	CER	10%	2 189 760

17. táblázat: Az archív, konzervált minták RET-ben rögzített adatai.

<b>minta sorszám</b>	<b>mikroszkópos detektálás</b>	<b>PCR detektálás</b>
1	+	CER
2	+	CER
3	+	NEG
4	+	NEG
5	+	NEG
6	+	NEG
7	+	CER
8	+	NEG
9	+	NEG
10	+	NEG
11	+	CER
12	+	MIX
13	+	NEG
14	+	NEG
15	+	NEG
16	+	NEG
17	+	NEG
18	+	NEG
19	+	NEG
20	+	NEG
21	+	NEG
22	+	NEG
23	+	NEG
24	+	NEG
25	+	CER
26	+	NEG

## 9 Köszönetnyilvánítás

Hálás köszönetemet szeretném kifejezni mindazoknak, akik az értekezés elkészültéhez hozzájárultak:

Témavezetőimnek Heltai Miklósnak és Békési László Szabolicsnak, akik már a TDK-s időszak óta irányítottak, akik biztatására kezdtem a doktori tanulmányokba, és akik kitartottak doktori munkám mellett.

Szalaiiné Mátray Enikőnek, Hidas Andrásnak, Mariano HIGESnek és Kovács Balázsnak a laboratóriumi munkám szakmai támogatásáért.

Ladányi Mártának a mért adatok statisztikai kiértékelésének irányításáért.

Markolt Ferenc Elláknak és Baka Erzsébetnek egykori doktorandusz-társaimnak a rengeteg operatív segítségükért.

A VadVilág Megőrzési Intézet és az Ökológiai Mezőgazdasági Kutatóintézet minden munkatársának, egykori kollégáimnak, akik sokrétű segítségükkel járultak hozzá a disszertáció elkészültéhez, valamint szakmai fejlődésemhez.

Az Országos Magyar Méhészeti Egyesületnek, a Magyar Méhtenyésztők Országos Egyesületének és a Gödöllői Kisállattenyésztési Kutatóintézet munkatársainak az országos mintagyűjtések megszervezésében.

A Madridi Complutense Egyetem Állatorvosi Tanszékének, a Marchamaloi Méhészeti Kutatóközpontnak, és a Szent István Egyetem Regionális Tudásközpontnak a műszaki háttér biztosításáért.

Az Aranynektár Kft.-nek az anyagi támogatásáért.