



MAGYAR AGRÁR- ÉS
ÉLETTUDOMÁNYI EGYETEM

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

DOI: 10.54598/006790

Balázs Réka
Gödöllő
2025

A doktori iskola megnevezése: Állatbiotechnológia és Állattudományi
Doktori Iskola

Tudományága: Állattenyésztés-tudományok

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

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

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

.....

Iskolavezető jóváhagyása
Prof. Dr. Mézes Miklós

.....

Témavezető jóváhagyása
Dr. Pálincás-Bodzsár Nóra

.....

Társ-témavezető jóváhagyása
Dr. Hidas András

1. A MUNKA ELŐZMÉNYEI, CÉLKITŰZÉS

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

Napjainkban számos tanulmány hívja fel a figyelmet arra, hogy a méhek pusztulása komoly problémákat okozhat az ökológiában, illetve a mezőgazdaságban (Hopkins & Herr 2010, Harwood & Dolezal 2020).

A genetikai sokféleség csökkenése, mint más haszonállatok esetében, a mézelő méheknél is nagy problémát jelent, ha nem nagyobb, egyedi genetikai és szaporodásbiológiai tulajdonságaik miatt. Fontos feladat az őshonos/honos mézelő méhek védelme, genetikai diverzitásuk megőrzése (Wegener et al. 2014). Az eredeti génkészlettel rendelkező állományok védelme céljából számos génmegőrzésre irányuló program indult szerte a világon *in vivo* és *in vitro* formában (Jensen & Pedersen 2005, Strange et al. 2008).

A 188/2019. (VII. 30.) Kormányrendelet értelmében Magyarországon kizárólag azok a mézelő méhek tenyésztethetők, amelyek rendelkeznek jóváhagyott tenyésztési programmal. Ennek megfelelően jelenleg hazánkban kizárólag a pannon méh tenyésztése engedélyezett, melyet a NÉBIH Állattenyésztési Igazgatósága önálló fajtaként ismert el a 02.5/2297-2/2012. számú határozatában, 2012. augusztus 21-én.

A pannon méh tenyésztését és felügyeletét a Magyar Méhtenyésztők Országos Egyesületének (MMOE) tagjai végzik (Szalay 2017). A méhanya tenyésztők minden évben kötelesek a családjából származó egyedeket morfológiai fajtaminősítésre (színezettség, szipókahossz, kubitális index) beküldeni a Nemzeti Biodiverzitás- és Génmegőrzési Központ Haszonállat-

génmegőrzési Intézetének Méhészeti és Méhbiológiai Osztályára. Az értékelés eredménye alapján kaphatják meg a tenyésztési engedélyt.

Ehhez kapcsolódóan kezdődtek el a magyarországi pannon méhek genetikai állapotát feltáró vizsgálatok intézetünkben, mivel fontos lenne, hogy egy adott egyedről genetikai eljárásokkal is meg lehessen állapítani, hogy a pannon méhhez tartozik-e.

Munkám során célul tűztem ki:

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

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

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

2.1. A vizsgálatban részt vevő méhcsoporthoz kialakítása

A vizsgálataim alapjául kifejlett, dolgozó méh egyedek szolgáltak, melyeket a méhanya tenyésztők küldtek morfológiai fajtaminősítés céljából. A beérkezett minták közül azon tenyésztők egyedei kerültek be a vizsgálatba, amelyek esetében hivatalos engedély volt felhasználásukra, hozzájárulási nyilatkozat aláírásával.

A mitokondriális DNS és a mikroszatellit analízis során négy csoport és összesen 144 minta került feldolgozásra. Az első csoportot olyan egyedek alkották, amelyek a Magyar Méhtenyésztők Országos Egyesülete méhanya nevelő állományából származtak, illetve családjaik több éven keresztül megfeleltek a hivatalos morfológiai fajtaminősítés követelményeinek (MF – 64 minta/16 méhészet). A második csoportba a morfológiailag nem megfeleltnek minősített családok egyedei kerültek (NMF – 32 minta/8 méhészet, a potroh színe alapján történt a válogatás. Ezen felül egy referencia csoport (REF – 32 minta/4 méhészet) került kialakításra, amely Buckfast hibrideket, olasz méh × Buckfast hibrid egyedeket, valamint olasz méheket (*Apis mellifera ligustica*) tartalmazott. Végül a negyedik csoportba két, más európai országokból származó (Ukrajna, Szlovénia) krajnai méh állományok egyedei (*Apis mellifera carnica*, KRAJ – 16 minta/2 méhészet) tartoztak.

A teljes genom szekvenálásra 87 méh került kiválasztásra a fent leírt 144 egyedből. A mintaszám csökkentését a mikroszatellit analízis eredményei alapján végeztem el, mely leginkább a fajtastandarnak megfelelt pannon méhek csoportját (MF) érintette. A kiválasztásnak a fő kritériuma az volt,

hogy az egyed minél több olyan egyedi alléllal rendelkezzen, melyek kizárólag az MF csoportban fordultak elő, másrésről a főkoordináta elemzés eredményét is figyelembe vettem. A három csoport között a mintaszám kiegyenlített volt (29-29), a krajnai méhek csoportja (KRAJ) pedig anyagi megfontolásból nem került bele ebbe a mintakollekcióba.

2.2. Genomi DNS izolálása és egalizálása

A genomi DNS izolálását a Latorre és munkatársai (1986) által kidolgozott módszer módosított változata alapján végeztem el.

A DNS mennyiségi és minőségi ellenőrzését, a minták egységes töménységűre történő egalizálása követte: mikroszatellit analízis esetében 6 ng/μl, míg a mitokondriális és az SNP vizsgálatok esetén 30 ng/μl volt a DNS felhasználási koncentrációja.

2.3. Mitokondriális DNS vizsgálat

A mtDNS három eltérő régióján (citokróom-oxidáz I. (*COI*) gén, rRNS (*16S*) gén, tRNA^{Leu}-cox2 intergénikus régió (*COI-COII*)) végeztem a vizsgálatot. A mitokondriális DNS diverzitásának meghatározása a *COI* és a *16S* gének, míg az evolúciós eredet felderítése a tRNA^{Leu}-cox2 intergénikus régió (*COI-COII*) alapján történt.

A PCR termékeket -20 °C-on tároltam azok tisztításáig, minőségellenőrzéséig és Sanger szekvenálásáig, melyet a BIOMI Kft. (Gödöllő, Magyarország) végzett el.

2.4. Mikroszatellit genotipizálás

Ugyanazon 144 minta genotipizálását 20 mikroszatellit marker használatával végeztem el: A29, A35, A88, A107, A113 (Estoup et al. 1995), A007, A(B)24, Ac011, Ac306, Ap049, Ap218, Ap226, Ap289, Ap307 (Solignac et al. 2003), Ap033, Ap043 (Garnery et al. 1998), A008 (Franck et

al. 1998), Ap055, Ap066, és Ap081 (Techer et al. 2015). A markerek kiválasztása a szakirodalomból, polimorfizmus információtartalmuk alapján történt.

Az univerzális szekvenciák és a három különböző fluoreszcens festék alkalmazásával lehetővé vált marker szettek kialakítása, így 6–7 markerrel az egyidejű genotipizálás. A PCR termékek detektálása automata DNS szekvenátor segítségével, kapilláris gélelektroforézissel, a gyártó leírása alapján történt.

2.5. Teljes genom szekvenálás

Az iBioScience Kft. (Pécs, Magyarország) végezte el a minták 20x-os lefedettségű szekvenálását Illumina NovaSeq 6000 készüléken, akárcsak az eredmények kiértékelését az óriási adathalmazra való tekintettel.

2.6. Az adatelemzéshez használt statisztikai módszerek

2.6.1. Mitokondriális DNS analízis

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

A nyers szekvenciák minőségi ellenőrzését követően, csoportonként meghatároztam a haplotípusokat és a diverzitási értékeket (nukleotid és haplotípus diverzitás), a Fu-féle *F_s* értéket, a Tajima-féle genetikai távolságot (*D*) és a szignifikancia szintjét.

A kapott haplotípusokat összehasonlítottam az NCBI (National Center for Biotechnology Information) adatbázisában elérhető szekvenciákkal a

nukleotid BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) program segítségével.

A haplotípusok közötti kapcsolatok vizualizálására a Median-Joining ábrát a Network 10 szoftverrel (Bandelt et al. 1999), míg a filogenetikai fát a MEGA 11 (11.0.13 verzió) szoftverrel (Tamura et al. 2021) készítettem el.

2.6.2. Mikroszatellit alapú populációgenetikai elemzések

A mikroszatellit marker analízis eredményeit a GenomeLab Genetic Analysis System 10.2 szoftverrel egyedenként értékeltem. A méhcsoportokon belüli genetikai diverzitás értékeit (allélszámok átlaga, „unbaised” várt és tényleges heterozigotizáció, csoporton belüli beltenyésztettség értéke, Hardy-Weinberg teszt) a Microsatellite Toolkit program segítségével határoztam meg (Park 2001).

A vizsgált méhcsoportokkal elvégeztem a páronkénti összehasonlítást (páronkénti F_{ST}) molekuláris varianciaanalízissel (AMOVA, GenAlEx 6.5 program), a főkoordináta elemzést (Principal Coordinate Analysis – PCoA) (Peakall & Smouse 2006, Peakall & Smouse 2012), a főkomponensekre végzett diszkriminancia analízist (Discriminant Analysis of Principal Components – DAPC) (Jombart 2008) és a STRUCTURE elemzést (Pritchard et al. 2000).

2.6.3. SNP adatok bioinformatikai kiértékelése

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

A kapott eredmények vizualizációja főkomponens analízissel (Principal Component Analysis – PCA), a PLINK 1.07 szoftver használatával

történt (Purcell et al. 2007). A PCA elemzésből a szélsőértékek ki lettek zárva, a felső 2 és alsó 5 % gyakoriságú variánsok, vagyis a nagyon monomorf és meglehetősen ritka SNP allélok.

A bioinformatikai szolgáltatás részeként egy olyan applikációt fejlesztettek ki, amely alkalmas a variánsok kromoszómánkénti szűrésére. Több szűrési tartomány kipróbálása után elegendő számú variánst (Wilkinson et al. 2012) a 70–30 %-os (MF–NMF, REF) allélgyakoriság esetén kaptam. Az így kapott variánsokat oszlopdiagrammon ábrázoltam kromoszómánként, hogy vizualizáljam eloszlásukat a genomban.

3. EREDMÉNYEK ÉS AZOK MEGBESZÉLÉSE

3.1. Mitokondriális DNS elemzés

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

A *COI* gén esetében 142 értékelhető szekvenciát sikerült nyerni (Génbanki azonosítók: PQ686393 - PQ686534). Összesen 6 polimorf hely alapján az egyedek öt haplotípusba voltak sorolhatók, melyek egyike sem volt megtalálható az NCBI adatbázisában, így újnak és egyedinek tekinthetők. Két polimorfizmus aminosav-változást eredményezett az NCBI adatbázisban szereplő szekvenciához képest: az egyik a HC4 haplotípus 180. pozíciójában (izoleucin helyett metionin), míg a másik a HC3 181. pozíciójában (valin helyett izoleucin) jelent meg.

A *16S* gén esetében a vizsgált minták (n=141, Génbanki azonosítók: PQ721124 - PQ721264) négy haplotípusba sorolódtak 4 polimorf hely alapján, melyek közül kettő még nem szerepelt az NCBI adatbázisában.

A két gén (*COI*, *16S*) szekvenciáit egyedenként egyesítettem, így létrehoztam 141 egyed szintetikus szekvenciáját. A haplotípusokban azonosított polimorf helyek száma összesen tíz. A vizsgált minták közül a H1 haplotípus bizonyult a leggyakoribbnak, amely az egyedek 75,2 %-át foglalta magába. A H6 haplotípus a H1-től öt bázispárral tért el, és kizárólag Buckfast hibrid egyedeket tartalmazott. Az MF csoportban négy különböző haplotípus fordult elő.

A statisztikai elemzéseket külön a *COI* és külön a *16S* génekre is elvégeztem, illetve egyben, a mesterségesen összevont szekvenciákkal is meghatároztam a diverzitási értékeket. A haplotípus diverzitás tekintetében a legmagasabb értéket a KRAJ csoport esetében mértem, míg a legalacsonyabbat az MF állomány mutatta. A nukleotid diverzitás szintén az

MF csoportban volt a legalacsonyabb, míg a legmagasabb értéket a REF egyedekben detektáltam. Az MF csoport esetében a populáció történeti folyamataira jellemző mindkét érték (Fu-féle F_s , Tajima-féle D) negatív volt.

A vizsgált méhmintákból származó, a *COI* és *16S* gének szintetikus szekvenciái összehasonlításra kerültek 45 különböző, több *Apis mellifera* alfajhoz tartozó nyilvánosan elérhető szekvenciával az NCBI adatbázisból.

A H1, H2, H3, H4 és H5 haplotípusok nagyfokú hasonlóságot mutattak ismert alfajokkal, úgymint az olasz és a krajnai méh, valamint a Buckfast hibrid. Ezzel szemben a H6 haplotípus főként afrikai elterjedésű alfajokkal mutatott genetikai hasonlóságot.

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

A tRNA_{Leu}-cox2 intergénikus régió (*COI-COII*) analízise során összesen 124 minta szekvenciája bizonyult értékelhető minőségűnek (Génbanki azonosítók: PQ724159 – PQ724284). A vizsgálat során hat polimorf hely került azonosításra, melyek alapján a minták hat különböző haplotípusba sorolódtak.

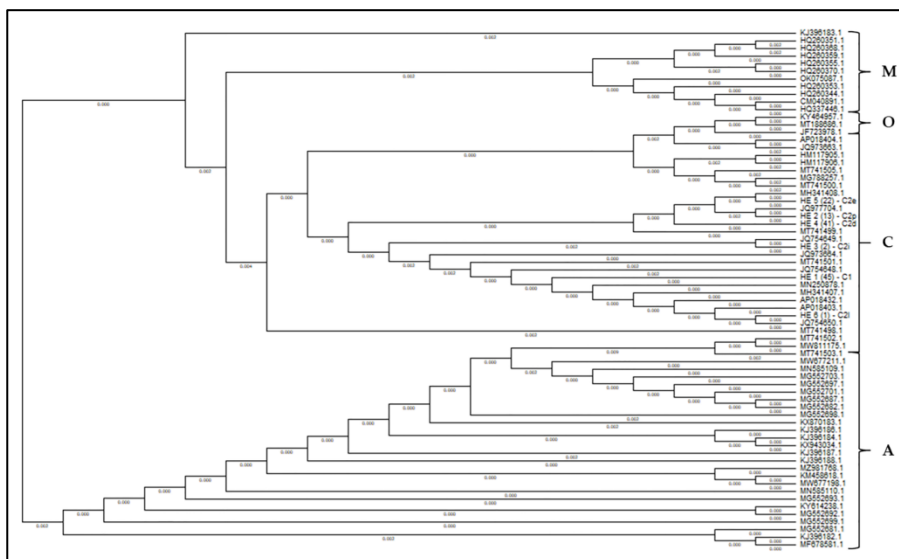
Az NCBI adatbázissal történő összehasonlító elemzés alapján valamennyi azonosított haplotípus korábban már leírásra került. A génbanki adatbázis alapján az alábbi haplotípusokat detektáltam, amelyek mindegyike a C evolúciós vonalhoz tartozott: HE1 – C1, HE2 – C2p, HE3 – C2i, HE4 – C2d, HE5 – C2e, HE6 – C2l.

A minták többsége a C1 és C2d haplotípusokba sorolódott, míg a C2l haplotípusba csupán egy MF egyed tartozott. A C1 haplotípusban valamennyi vizsgált csoport egyedei képviseltették magukat. Bár a C2d és a C2e haplotípusok viszonylag sok egyedet foglaltak magukba, a REF csoportból származó minták nem voltak jelen bennük. A C2p haplotípus olasz méh

egyedekből, néhány Buckfast hibridből, valamint egy MF egyedből állt. A C2i haplotípusba két Buckfast hibrid egyed tartozott.

A tRNA^{leu-cox2} intergénikus régió (*COI-COII*, E2/H2) vizsgálata alapján a legnagyobb haplotípus diverzitás az MF és a REF csoportban mutatkozott, míg a legalacsonyabb értéket a KRAJ csoport esetében kaptam. A nukleotid diverzitás szintén a krajnai méhekben volt a legalacsonyabb, míg a legmagasabb értéket a REF csoportban mértem. A *COI* és a *16S* szintetikus szekvenciáival ellentétben, az intergénikus régiónál a populáció történeti folyamataira jellemző értékek (Fu-féle *F_s*, Tajima-féle *D*) az MF csoportban pozitívak voltak.

A kapott szekvenciák összehasonlításra kerültek 62, az NCBI adatbázisból származó szekvenciával. Összesen 45 haplotípusba sorolódtak a szekvenciák, melyek négy evolúciós vonalhoz tartoztak: A, C, O és M (1. ábra).



1. ábra: A tRNA^{Leu}-cox2 intergénikus régió (*COI-COII*) filogenetikai elemzése a magyarországi pannon méh evolúciós eredetének meghatározására

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

A, C, O, M: különböző evolúciós vonalak

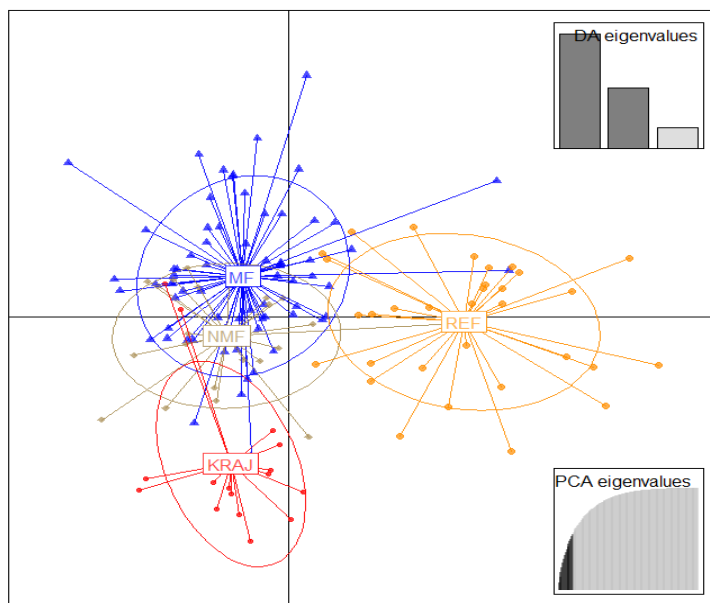
A *COI* és *16S* mitokondriális régiók variabilitásának vizsgálata során a H6 haplotípusba tartozó, afrikai eredetű méhekkal hasonlóságot mutató 8 Buckfast hibrid egyed nem került bevonásra ebbe a vizsgálatba. Ennek oka a szekvenciák gyenge minősége, és eltérő hossza, a szekvenciák majdnem kétszer olyan hosszúak voltak, mint a többi minta esetén.

3.2. Mikroszatellit marker analízis

Mikroszatellit marker analízis során összesen 224 különböző allélt azonosítottam. A legalacsonyabb átlagos allélszám a KRAJ csoportban volt, ezzel szemben a legmagasabb alléldiverzitás az MF csoportban volt megfigyelhető. Általában véve minden vizsgált méhcsoporthoz magas volt a heterozigotizáció, és csupán az MF és az NMF csoportok tértek el a Hardy–Weinberg egyensúlytól szignifikánsan. A beltenyésztettség szintje minden vizsgált csoportban alacsony volt.

Számos ritka allélt (gyakoriságuk 10 % alatti) detektáltam, több olyan is előfordult, amely kizárólag az egyik csoportban volt csak kimutatható.

A különböző populációgenetikai statisztikai elemzések (páronkénti F_{ST} , PCoA, DAPC, STRUCTURE) során azt tapasztaltam, hogy a REF szépen elkülönült a többi vizsgált méhcsoporthoz. Az MF és az NMF között részleges átfedés volt érzékelhető, azonban észrevehető, hogy az NMF csoport egyedei jobban hasonlítanak a krajnai méhekhez, mint a fajtastandardnak megfelelő pannoni méhek (MF) (2. ábra).



2. ábra: A vizsgált méhcsoportok egyedein végzett diszkriminancia analízis (DAPC) 15 főkomponens alapján

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

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

Az SNP vizsgálatokra kiválasztott minták (87 egyed) alkotta méhcsoportok alap diverzitás mutatói nem változtak számottevően a 144 mintából álló mintagyűjteményhez képest a mikroszatellit marker analízis alapján.

A PCoA és a STRUCTURE elemzés során is hasonló eredményeket kaptam, miszerint az MF és NMF csoportok némi átfedést mutattak, ám a REF csoport nagyon jól elkülönült a pannon méhektől.

3.3. Nagy felbontású markerelemzés pontmutációk alapján

A három méhcsoport (MF, NMF, REF) elemzése összesen 6.533.718 lókuszt tartott fel variánst a 87 mintában.

A PCA elemzés alapjául az 5-98 % közötti gyakorisággal előforduló alternatív allélok szolgáltak, ami 5.912.008 variánst (SNP) jelentett összességében (3. ábra).



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

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

Ennek eredményeként elmondható, hogy a REF csoport nagyon szépen elkülönült az MF és NMF egyedektől, mely utóbbiak némileg átfedést mutattak, mint ahogy a mikroszatellit analízis során is. Ugyanakkor megjegyzendő, hogy az MF egy sokkal koncentráltabb csoportot alkotott, míg az NMF egyedek meglehetősen szórtan helyezkedtek el az ábrán.

A variánsok azon szűrése, mely az MF esetén legalább 70 %-os, míg az NMF és a REF csoportokban legfeljebb 30 %-os gyakorisággal fordultak elő, 31 alternatív allélt (SNP) eredményezett. Ezzel szemben, a fordított szűrés esetén 69 olyan variánst azonosítottam, melyek inkább a morfológiai hibával rendelkező, és az egyéb, hazánkban előforduló alfajok egyedeire jellemzőek.

A variánsok kétféle megközelítésből történő szűrését követően azok viszonylag jól lefedték a genom egészét. Az első szűrés esetében a 6. és 15. kromoszómán nem volt kimutatható SNP, míg második szűrés esetében a legnagyobb számú variáns a 6. és a 12. kromoszómán fordult elő.

4. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

4.1. A mitokondriális DNS adatok értelmezése és jelentősége

A pannon méhek eredetének vizsgálata során megállapítottam, hogy minden vizsgált egyed a C evolúciós vonalhoz, vagyis az észak-mediterrán alfajokhoz tartozott.

A mesterségesen összevont szekvenciák (*COI*, *16S*) vizsgálata alapján a legtöbb haplotípus egy csoportba sorolódott, kivéve a H6. Ez a haplotípus több mint 99,7 %-os genetikai hasonlóságot mutatott az A evolúciós vonalba tartozó alfajokkal, melyek az afrikai elterjedésű méh alfajokat reprezentálják. Esetükben a szekvenciák hossza – a többitől eltérően, melyek 400 bp körüliek – 800 bp volt, amit agaróz gélelektroforézissel is megerősítettem. Ez az evolúciós vonalak közötti hosszpolimorfizmusnak (Garnery et al. 1992), heteroplazmiának (Meusel & Moritz 1993) vagy a NUMT-ok jelenlétének (Zhang & Hewitt 1997) is tulajdonítható, azonban ennek megerősítésére további vizsgálatokra van szükség.

A mesterségesen összevont szekvenciák mitokondriális diverzitás értékei alapján megállapítottam, hogy a fajtastandardnak megfelelt pannon méhek genetikai állománya jóval homogénebb, míg a REF csoportban nagyobb mértékű volt a variabilitás. Ez összhangban van a mikroszatellit analízis eredményeivel is. Ennek oka abban keresendő, hogy a REF csoportot különböző alfajok alkották, míg az MF ugyan 16 méhanya nevelőtől, Magyarország területét jól lefedő méhészetekből, ám kizárólag pannon méhekből állt. A populációk történeti folyamataira jellemző értékek arra utalnak, hogy a közelmúltban a pannon méheknél populáció-növekedés, vagy pozitív szelekció következhetett be.

4.2. A vizsgált méhcsoporthok genetikai diverzitása mikroszatellit markerek alapján

A mikroszatellit analízis eredménye alapján kijelenthető, hogy a fajtastandardnak megfelelt pannon méhek variabilitása megfelelő szintű, genetikai állapota kielégítő.

A különböző populációgenetikai statisztikai elemzések (páronkénti F_{ST} , PCoA, DAPC, STRUCTURE analízis) eredményei alapján azt mondhatjuk, hogy az MF egyedek mindig együtt csoportosultak, és jól elkülönültek az egyéb, hazánkban előforduló egyéb alfajok csoportjától (REF). A MF és az NMF között enyhe, de detektálható különbség volt megfigyelhető a genetikai paraméterek szintjén, nemcsak fenotípusosan. A némi genetikai átfedés köztük arra utal, hogy ha került is be idegen genetikai anyag a magyarországi pannon méhekbe, az nem napjainkban történt, hanem régebben, vélhetően különböző generációs sorokban.

Az NMF és a KRAJ között hasonlóság fedezhető fel, míg a MF csoportja nagyobb genetikai távolságot mutatott a krajnai méhektől. Ez az eltérés feltehetően azok korábbi hibridizációjának következménye lehet, melyet több generáció alatt befolyásolhatott a természetes és a mesterséges szelekció is.

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

4.3. SNP variánsok vizsgálatából levonható következtetések

Az SNP alapú elemzések megerősítették a mikroszatellit analízis eredményeit, miszerint a REF viszonylag nagy genetikai különbséget mutatott az MF és az NMF csoportoktól, és utóbbi kettő között van némi átfedés. Arra a következtetésre jutottam, hogy ámbár az SNP alapú markerelemzés pontosabb képet nyújt a genetikai állományról, hasonló eredmények várhatóak elegendő számú mikroszatellit marker használata esetén is. Emellett a nagyobb felbontású, SNP alapú markerkutató sokkal költségesebb, és elengedhetetlen hozzá a megfelelő laboratóriumi infrastruktúra, a bioinformatikai háttér és számítógépes kapacitás. Mikroszatellit markerek alapján nagyon jól jelezhető a genetikai variabilitás változása az állományok időről-időre történő monitorozásával, melynek a génmegőrzésben óriási jelentősége van.

A bioinformatikai elemzés során 100 SNP-t azonosítottam, melyek felhasználhatóak lehetnek a pannon méh azonosítására és/vagy az idegen genetikai anyaggal rendelkező méhek kiszűrésére. Nagyon fontos, hogy a teljes genomot lefedő SNP vizsgálatok során azonosított genetikai változatok csak megfelelő validálást követően használhatóak fel a gyakorlatban.

Továbbá megemlíteném, hogy a nagymértékben csökkentett pontmutációs panelek fajtaazonossági vizsgálatokra, idegen genetikai anyag esetleges jelenlétének kimutatására inkább alkalmasak, mintsem a klasszikus populációgenetikai vizsgálatokra (Muñoz et al. 2015).

4.4. Javaslatok

Vizsgálati eredményeim alapján az alábbi javaslatokat fogalmazom meg:

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

5. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

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

6. 69 olyan pontmutációt azonosítottam a pannon eredetű, ám morfológiai hibával rendelkező, és a hazánkban előforduló egyéb alfajok (olasz méh, Buckfast hibrid) egyedeinek genomjában, melyekkel validálást követően a Magyarországon fenntartott, fajtastandardnak megfelelt pannon méhekben esetlegesen előforduló idegen genetikai anyag biztonsággal kiszűrhető.

6. AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉHEZ KAPCSOLÓDÓ PUBLIKÁCIÓK

Az értekezés témakörében megjelent impakt faktoros szakcikk:

Balazs, R.; Molnar, T.G.; Meleg, E.E.; Hidas, A.; Zajacz, E.; Racz, T.; Palinkas-Bodzsar, N. (2025): Evolutionary Origin and Genetic Diversity of the Pannonian Ecotype of *Apis mellifera carnica* Colonies in Hungary Based on Mitochondrial DNA and Microsatellite Markers. **Biology**, 14 (5), 475.

DOI: 10.3390/biology14050475

Az értekezés témakörében megjelent nem impakt faktoros tudományos cikkek:

Balázs R., Edviné Meleg E., Hidas A., Zajác E., Rác T., Pálincás-Bodzsár N. (2023): Magyarországon élő pannon méh családok genetikai összetételének vizsgálata molekuláris markerek alapján. **ACTA AGRONOMICA ÓVÁRIENSIS**, 64 (Ksz 2): 199-209. (ISSN 1416-647X)

Az értekezés témakörében megjelent nem impakt faktoros ismeretterjesztő cikkek:

Balázs R., Edviné Meleg E., Hidas A., Rác T., Zajác E., Pálincás-Bodzsár N. (2023): Pannon méh állományok genetikai diverzitásának vizsgálata molekuláris markerekkel. **Magyar Mezőgazdaság – Méhészet**, 71 (111): 22-24.

Nemzetközi konferencia kiadványban megjelent közlemények:

Balázs R., Edviné Meleg E., Hidas A., Rác T., Zajác E., Molnár T., Pálincás-Bodzsár N. (2024): Pannon méh állományok eredetének és genetikai

sokféleségének vizsgálata mitokondriális DNS markeranalízis alapján. IX. Gödöllői Állattenyésztési Tudományos Nap, nemzetközi konferencia, 9th Scientific Day of Animal Breeding in Gödöllő (GANT), 15. November 2024., Book of Abstracts of Presentations and Posters. p. 47-48. ISBN: 978-963-623-106-4

Balázs R., Edviné Meleg E., Hidas A., Rácz T., Zajác E., Pálincás-Bodzsár N. (2022): Pannon méh állományok genetikai sokféleségének vizsgálata mikroszatellit marker analízissel. VIII. Gödöllői Állattenyésztési Tudományos Nap, Gödöllő, 2022.11.25., p. 46.

Hazai konferencia kiadványban megjelent közlemények:

Balázs R., Edviné Meleg E., Hidas A., Rácz T., Zajác E., Molnár T., Pálincás-Bodzsár N. (2025): Magyarországi pannon méh állományok evolúciós eredetének vizsgálata mitokondriális DNS COI régiója alapján. In: Hajdú, Péter (szerk.) Doktoranduszok Fenntarthatósági Szimpóziuma – Absztraktkötet, p. 11.

Balázs R., Edviné Meleg E., Hidas A., Rácz T., Zajác E., Pálincás-Bodzsár N. (2024): Molecular genetic analysis of hungarian pannonian bee populations by microsatellite markers. 6th National Conference of Young Biotechnologists (FIBOK), Martonvásár, 4-5. April 2024., p. 103.

Balázs R., Edviné Meleg E., Hidas A., Rácz T., Zajác E., Pálincás-Bodzsár N. (2024): Magyarországon élő pannon méh populációk molekuláris genetikai elemzése mikroszatellit markerekkel. Absztrakt kötet. Biotechnológus Napok, Budapest, 2024. április 26-27., p. 4.

Balázs R., Edviné Meleg E., Hidas A., Rácz T., Zajác E., Pálincás-Bodzsár N. (2023): Pannon méh állományok genetikai

összetételének és diverzitásának vizsgálata molekuláris markerekkel. Absztrakt kötet. Magyar Agrártudományi Doktoranduszok Szimpóziuma, Debrecen, 2023. február 24-25. p. 20.

Balázs R., Edviné Meleg E., Hidas A., Donkó K.S., Sisa A., Szabó G., Rácz T., Zajác E., Pálincás-Bodzsár N. (2022): Pannon méh családok szerkezeti sajátosságainak vizsgálata molekuláris genetikai markerekkel. In: S. n. 27. Szaporodásbiológiai Találkozó Összefoglalók p. 31.

Balázs R., Edviné Meleg E., Hidas A., Pálincás-Bodzsár N. (2022): Molecular genetic investigation of Pannonian bee populations in Hungary to assess their diversity In: Bánfalvi, Zsófia; Gócza, Elen; Olasz, Ferenc; Pál, Magda; Posta, Katalin; Várallyay, Éva (szerk.) „FIBOK 2022”: Fiatal Biotechnológusok V. Országos Konferenciája, Gödöllő, p. 116.

Balázs R., Edviné Meleg E., Hidas A., Pálincás-Bodzsár N. (2022): Pannon méh állományok genetikai állapotának felmérése Magyarországon molekuláris markerek alapján. In: Molnár, Dániel; Molnár, Dóra (szerk.) XXV. Tavaszi Szél Konferencia, Budapest, p. 83.

Balázs R., Edviné Meleg E., Hidas A., Pálincás-Bodzsár N. (2021): Pannon méhtenyészetek genetikai diverzitásának jelentősége és vizsgálata. XXXII. Vándorgyűlés, Tápiószele, 2021. november 25-26., p. 9.