

MIKROSZATELLIT MARKEREK FELHASZNÁLÁSA A HÁZI MÉHEK (*APIS MELLIFERA* L.) KUTATÁSÁBAN. IRODALMI ÖSSZEFOGLALÓ

ZAKAR ERIKA – OLÁH JÁNOS – JÁVOR ANDRÁS – KUSZA SZILVIA

ÖSSZEFOGLALÁS

A mézelő méh az *Apis* nemzetség legismertebb tagja. Az *Apis mellifera*-n kívül az *A. cerana* (*Apis indica*) bír nagyobb jelentőséggel, míg a többi öt faj (*A. dorsata*, *A. florea*, *A. andreniformis*, *A. nigrocincta*, *A. koschevnikovi*) Dél- és Délkelet-Ázsia lakója és gazdaságilag szinte jelentéktelen. Az *Apis mellifera* fajon belül az *A. mellifera mellifera* (északi), *A. mellifera ligustica* (olasz), *A. mellifera carnica* (krajnai), *A. mellifera caucasica* (kaukázusi) gazdaságilag jelentős fajták. A Szerzők szakirodalmi publikációk által mutatják be a házi méh kutatásában alkalmazott mikroszatellitek azonosítását, izolálását és technikai fejlődését. A házi méhben tudományos és ökonómiai fontossága miatt számos mikroszatellit mutatott ki, melyek kiváló eszközei a genetikai diverzitás felmérésének és a géntérképezésnek. Mikroszatellitek használatával az egyedek könnyen, pontosan azonosíthatóak és új lehetőségeket biztosítanak a házi méhek kutatása területén. A fent említett módszerrel házi méhcsaládok apasági analízise is elvégezhető. A világ számos pontján végeznek ilyen és ehhez hasonló kutatásokat, melyeket az élen járó országok vizsgálatainak bemutatásán keresztül ismertetnek a Szerzők.

SUMMARY

Zakar, E. – Oláh, J. – Jávor, A. – Kusza, Sz.: THE USE OF MICROSATELLITE MARKERS IN THE STUDY OF HONEY BEE (*Apis mellifera* L.) (REVIEW ARTICLE)

The honey bee is the widest known member of the *Apis* genus. Besides the *Apis mellifera* the *Apis cerana* is the most significant, while the other five species (*A. dorsata*, *A. florea*, *A. andreniformis*, *A. nigrocincta*, *A. koschevnikovi*) which are native to South and South-East Asia, are economically insignificant. Within the *Apis mellifera* species the *A. mellifera mellifera* (Northern), the *A. mellifera ligustica* (Italian), *A. mellifera carnica* and *A. mellifera caucasica* are the economically significant subspecies. The authors are demonstrating the microsatellites determination, isolation and development applied in the honey bee research through relevant of publications. A number of microsatellites have been identified in honey bee, due to their scientific and ecological importance, which are excellent means of genetic diversity research and genome mapping. By using microsatellites, the individuals can be easily and accurately identified and new possibilities are opened in honey bee research. With the above mentioned method, the bee family's paternity analysis can also be carried out. This and similar researches are applied all around the world, the results of which are being reviewed via the studies of leading countries in this field.

BEVEZETÉS

Ruttner és mtsai (1978) a házi méh biodiverzitását először morfológiai bélyegek alapján mérték fel. Ruttner (1988) szerint a házi méh fajon belül morfológiájuk alapján 24 alfaj különböztethető meg. Ezen belül morfológiai bélyegek alapján három evolúciós származási vonal különíthető el. Az európai házi méh „M” melyben megjelenik az *Apis mellifera iberica* és *Apis mellifera mellifera*, az afrikai „A” és az észak mediterrán „C” melybe beletartozik az *Apis mellifera ligustica*, *Apis mellifera carnica* és *Apis mellifera cecropia*. Franck és mtsai (2000) szerint az utóbbi molekuláris genetikai vizsgálatok bizonyították további két származási vonal meglétét, ami tartalmazza a közel kelet fajtáit és Etiópiából az *A. m. yemenica* fajtát. Jensen és Pedersen (2005) szerint a XX. század óta az ÉNy-európai méhtenyésztésben a kiválóbb fajták szerepelnek, főként az *Apis mellifera ligustica* Olaszországból és az *Apis mellifera carnica* a korábbi Jugoszláviából. Direkt fajtacserélés és a génáramlás figyelhető meg az őshonos és betelepített fajták között. Maul és Hahnle (1994) szerint Európa egyes részein az őshonos méheket már kihaltak tekintik. Németországban például erőteljes kicserélés kezdődött, az *Apis mellifera mellifera* fajtát *Apis mellifera carnica* fajtára váltották. Jensen és mtsai (2005) szerint a Skandináv országokban és a Brit-szigeteken a legtöbb profi és hobbi méhész ma *Apis mellifera ligustica*-t, *Apis mellifera carnica*-t vagy egy mesterségesen létrehozott vonalat, a Buckfast méhet tartja. Az *Apis mellifera mellifera* természetes elterjedési területe jelentősen lecsökkent az utóbbi években.

Magyarországon az *Apis mellifera carnica* honos, jelenleg egyedüliként elismert és tenyészthető méhfajtánk. Azt feltételezzük, hogy az országban számos idegen fajta illetve hibrid is megjelenik. Hipotézisünk bizonyítására a Debreceni Egyetem Állatgenetikai Laboratóriumában mikroszatellit és mtDNS vizsgálatokat tervezünk.

MIKROSZATELLIT MARKEREK AZONOSÍTÁSA ÉS IZOLÁLÁSA

A mikroszatellit a genomban elszórtan elhelyezkedő néhány bázispár ismétlődéséből álló 50–300 bázispár (bp) hosszúságú szekvencia részletek. Ezen ismétlődések típusa különböző, azonosíthatóságukat az őket határoló, genomban csak egy-egy helyen előforduló szekvenciák, primer kapcsolódási helyek teszik lehetővé (Fésüs és mtsai, 2000).

A legtöbb fajban az izolált markerek száma meglehetősen kevés. Nagyszámú markert állapítottak meg viszont néhány gerinces fajban, úgymint az emberben, egérben és patkányban. A haszonállatokban és halakban a meghatározott markerek száma korlátozott (Katti és mtsai, 2001).

A mikroszatellit markerek izolálásának vázaltszerű lépései a következők. Egy egyed genomiális DNS-ét izolálják. A DNS oldathoz (méhek esetében: Sau3A) restrikciós enzimet adnak, ami a DNS-t (méhek esetében: 200–600 bp) szegmensekre hasítja. A szegmensek DEAE (diethylaminoethy) papíron jól elkülönülten látszanak (Salignac és mtsai, 2003) és mágneses izoláción alapuló dúsítással különítik el az ismétlődést tartalmazó fragmenteket. A mikroszatellit könyvtárat egy, az ismétlődő szekvenciára specifikus PCR-en alapuló módszerrel szűrik. A kiszűrt

klónból szekvencia meghatározás alapján megállapítják, hogy mennyi tartalmazott mikroszatellit ismétlődést, majd ismét szűrik a primertervezésre alkalmas markereket. Megállapítják az egyedi, egymással nem azonos szekvenciájú mikroszatelliteket és génbanki adatokkal vetik össze. Végül elvégzik az újonnan izolált mikroszatellit polimorfizmus vizsgálatát és meghatározzák a markerek térkép-pozícióját (*Bakos és mtsai, 2008*).

A mézelő méh mikroszatellit markerekkel történő vizsgálatát nagyban elősegítette a teljes genom szekvenciát ismertető tanulmány, mely az *Apis* nemzetség afrikai eredetére is rávilágít (*The Honeybee Genome Sequencing Consortium, 2006*).

Szociális rovarok populáció struktúrájának és rokoni kapcsolatainak vizsgálatahoz elsőként *Davis és mtsai (1990)* alkalmazott DNS markereket. Szintén restrikciós hely vizsgálatokat alkalmazott a törpe méh (*Apis florea*) genetikai polietizmusának (egy fajban több genotípus is megtalálható) bizonyítására *Oldroyd és mtsai (1994)*. A házi méhben tudományos és ökonómiai fontossága miatt számos mikroszatellit mutattak ki (*Estoup és mtsai, 1993*), melyek kiváló eszközei a genetikai diverzitás megállapításának (*Estoup és mtsai, 1994*) és a géntérképezésnek. Mikroszatellitek használatával az egyedek könnyen, pontosan azonosíthatóak és új lehetőségeket biztosítanak a házi méhek kutatása területén (*Estoup és mtsai, 1995a*). A fent említett módszerekkel házi méhcsaládok apasági analízise is elvégezhető (*Fondrk és mtsai, 1993*).

A házi méh genomban a (CT)_n mikroszatellit 52 helyen, míg a (GT)_n 23 helyen fordul elő. Ezzel szemben a poszméh genomban a (CT)_n 24, míg a (GT)_n 2 helyen található. A CT és a GT kéttípusú dinukleotid, ahol a szekvencia ismétlődésének száma (n). Átlagosan a (CT)_n és a (GT)_n mikroszatellitek 15 és 34 kilobázisonként jelennek meg a házi méhben valamint 40 és 500 kilobázisonként a poszméhben. *Weber (1990)* szerint a (CT)_n és (GT)_n mikroszatellitek három csoportba sorolhatók: teljes (a szekvenciában nincs szakadás), hiányos (egy vagy több szakadás van az ismétlődések lefutásában) és összetett. A poszméhben a (CT)_n mikroszatellitek többsége hiányos, míg a házi méhben a (CT)_n és (GT)_n mikroszatellitek teljeseek. Bizonyították, hogy nagyszámú intrapopulációs polimorfizmus fedezhető fel egyetlen házi méh mikroszatellit tesztelésével (*Estoup és mtsai, 1993*).

Hasonló mikroszatellit elektromorfok (azonos méretű PCR termékek) keletkeznek független mutációs eseményekből, így az allélok származása nem meghatározható. Ez a jelenség a homoplázia (függetlenül kialakult hasonló jelleg(ek)kel rendelkező csoportok), melyet két mikroszatellit marker elektromorf szekvenciája segítségével vizsgáltak. Ezek alapvető ismétlődéseit hasítják különböző rövid (1-2 bp) DNS motívumokra. Ezen hasítások száma és helye alapján elektromorfok alakultak ki a szoros és távoli rokonságban lévő házi méh és poszméh populációkból. A szekvenciában nem találtak különbséget, ha az elektromorfok ugyanazon alfajokból vagy közeli rokon alfajokból származtak. Ugyanakkor gyakran állapítottak meg különbségeket a szekvenciákban távoli rokon alfajok esetén. Gyakran számos homoplázia jelenik meg a populáció különbség e szintjén. Bebizonyították, hogy a hasított mikroszatellitek a legalkalmasabbak a populációk közötti különbségek és viszonylag távoli rokoni kapcsolatban lévő populációk közötti evolúciós kapcsolatok kimutatására (*Estoup és mtsai, 1995b*).

A technikailag bonyolult molekuláris biológiai eljárások tették szükségessé a mikroszatellit markerek fejlődését (Glenn, 1995). További kutatások során hét mikroszatellit markert sikerült kimutatni Ausztráliából gyűjtött minták segítségével. A mikroszatellitek közül öt (GA) ismétlődés (három teljes, kettő hiányos és egy összetett ismétlődés), és a megtalált másik kettő (GA) n -t tartalmazó ismétlődés. A tanulmányban megadják e markerek szekvenciáit és a szükséges PCR kondíciókat (Rowe és mtsai, 1997).

Solignac és mtsai (2003) 552 mikroszatellit szekvenciáját határozták meg a primerek szekvenciáival együtt a házi méh genomban. A mikroszatelliteket számos könyvtárból készítették. Egyrészt a teljes genomiális DNS frakcióiból, másrészt a mesterséges bakteriális kromoszóma klónok könyvtárából. A házi méhből izolált markerek mindegyike polimorf. Közülük számos sikeresen amplifikálódott három másik *Apis* fajban is (*A. cerana* – 58%, *A. dorsata* – 59%, *A. florea* – 38%).

Solignac és mtsai (2004) elkészítették a házi méh mikroszatellit térképét. A vizsgálatban 556 markert határoztak meg. Az információk a továbbiakban kiválóan alkalmazhatóak lesznek az *Apis* genom vizsgálatánál. A térképen szereplő markerek közül 153-at sikeresen amplifikáltak három *Apis* fajban (*Apis cerana*, *Apis dorsata* és *Apis florea*). Három év múlva a már meg lévő térképet tovább fejlesztették egy harmadik-generációs mikroszatellit térképpé, melyet összehasonlítottak a házi méh géntérképével (Solignac és mtsai, 2007).

MIKROSZATELLIT MARKEREKKEL VÉGZETT VIZSGÁLATOK EURÓPÁBAN

Az európai házi méh alfajok természetes eloszlására szignifikánsan hatott az emberi tevékenység az elmúlt században. A nem őshonos házi méh alfajokat szaporították, így az őshonos fekete méh (*Apis mellifera mellifera*) populációi elvesztették fajtatisztaságukat a génáramlás vagy kihalás által (Jensen és mtsai, 2005).

Estoup és mtsai (1995a) folytatták a házi méhek mikroszatellit vizsgálatát. A mintákat kilenc populációból vették. Háromat Afrikából (*A. mellifera intermissa*, *A. m. scutellata*, *A. m. capensis*), és négyet Európából (*A. m. mellifera*, *A. m. ligustica*, *A. m. carnica* és *A. m. cecropia*). A vizsgálat során hét mikroszatellit markert (A7, A28, A113, B124, A43, A24, A88) alkalmaztak, melyek segítségével jelentős genetikai varianciát mutattak ki. Az átlagos heterozigotitás és az átlagos allélszám az afrikai populációk esetében szignifikánsan magasabb, mint az európai fajták esetében. A mikroszatellit analízis megerősítette, hogy az *Apis mellifera* fajon belül három különböző származási vonal alakult ki, amit a korábbi morfológiai és mtDNA vizsgálatok megállapítottak.

A családok közötti rokoni kapcsolatok kutatására jó példa egy Németországban végzett tanulmány. Az anya nászrepülésekor 142 here mintát gyűjtöttek be és 20 mikroszatellit marker segítségével vizsgálták a herék közötti rokoni kapcsolatot. Eredményeik alapján egy esetben négy testvér rokonságát állapították meg, hat esetben három testvér rokonságát, húsz esetben pedig kettőt. Nyolcvan egyed nem állt rokonságban egymással. Összességében megállapították, hogy herék gyülekezete 240 különböző családból származott. Ebből a meglepően magas számból következik, hogy az anya és a vele pározó herék beltenyésztési koefficiense minimális. Az anya és herék közötti rokoni kapcsolat igen alacsony volta

maximalizálja a genetikai diverzitást a különböző származású családok között (Baudry és mtsai, 1998).

A nyugat-európai házi méh (*Apis mellifera mellifera* és *A. m. iberica*) 15 populációjának genetikai variabilitását 11 mikroszatellit marker (A43, B124, A88, A113, A28, A24, A7, A8, Ap33, Ap36 és Ap43) segítségével határozták meg. E két fajta genetikai változatossága jellemzően alacsonyabb, mint a legtöbb tanulmányozott fajtának, és a tesztek nagy része növekvő populációméretet jelez. A genetikai profil inkább a dél-spanyolországi populációkkal homológ. A francia populációban többé-kevésbé az introgresszió jelensége figyelhető meg (egy adott faj génekészletének egy része hibridizálás révén természetes körülmények között is átkerülhet egy másik fajba). A gének az É-mediterrán származási vonalból kerültek a populációba, mivel leginkább erről a területről importáltak méhanyákat. Az introgresszió mértéke a fő forrása a populációk közötti genetikai távolságnak (Garnery és mtsai, 1998).

A Spanyol-szigetvilág 22 régiójából származó méhcsalád genetikai struktúráját és varianciáját nyolc polimorf mikroszatellit markerrel állapították meg. A korábbi vizsgálatok eredményei alapján a családok az afrikai és a nyugat-európai származási vonalhoz tartoznak. A szigetek állományai között a genetikai variabilitás alacsony és a heterozigotizáció hiánya is jelen van, ami jelzi az alpopulációk genetikai struktúráját. A genetikai különbözőségeket megállapító teszt szerint a Spanyol-szigetvilág populációi két csoportra oszthatók (Malorka és Menorka valamint Ibiza és Formentera). A filogenetikai analízis igazolta, hogy a szigetvilág méhei valóban a mediterrán régióból származnak. A Formenterából, Ibizából és Menorkából származó minták mikroszatellit (B124, A113, A7, A35, A24, A28, A88 és a8) adatai azt mutatták, hogy az ősi populációt az anyák importja fenyegeti és védelmük indokolt (De La Rúa és mtsai, 2003).

Nyolc ÉNy-európai populációban vizsgálták a helyi méh megmaradt génállományát. A 11 mikroszatellit marker ebben az esetben is kiváló eszköznek bizonyult. Az adatok bizonyossága szerint az *Apis mellifera mellifera* alfaj még jelen van Norvégiában, Svédországban, Hollandiában, Németországban, Angliában, Skóciában és Írországon, bár a génáramlás jelentősen fenyegeti a populációkat (Jensen és mtsai, 2005).

Az *Apis mellifera ligustica* genetikai variabilitását nyolc polimorf mikroszatellit marker (A113, A28, A(B)24, A14, A107, A88, Ap43 és A7) segítségével vizsgálták Olaszországban. A tanulmányban *Apis mellifera mellifera*, *Apis mellifera carnica* és Buckfast mintákat hasonlítottak össze. Eredményeik alapján nagyszámú allélt és heterozigotizációt detektáltak. Bebizonyították, hogy az intenzív méhészeti gyakorlat – úgymint vándorlásos méhészkedés és más fajtájú anyák behozatala – miatt az introgresszió intenzív és mindegyik őshonos *Apis mellifera ligustica* fajtában megtalálhatók az idegen allélok. Végül javaslatot tettek a helyi biodiverzitás védelmére és a tenyésztési programok kontrolljára az őshonos fajta védelmében (Dall'Olio és mtsai, 2007).

Miguel és mtsai (2007) populációgenetikai vizsgálatainak központjába az „M” evolúciós származási vonalból két fajtát választottak, az *Apis mellifera mellifera*-t és az *A. m. iberiensis*-t. Az Ibériai-félszigetről, Franciaországból és Belgiumból 27 méhpopulációból vettek mintákat. A mikroszatellit adatok meggyőző bizonyítékot szolgáltatnak, hogy a Pireneusok természetes akadálya korlátozza a természetes génáramlást. Az „M” származási vonalon belül izolációs távolság kialakítását

javasolják. Az Ibériai-félsziget glaciális refúgium terület volt a méhek számára Nyugat-Európában. Az interglaciális visszanépesedésre két út meglétét bizonyították. A nyugati út szignifikánsabb a visszanépesedési folyamat lezajlásához. Bemutattak három fő faktort a két fajta különbözőségére: a Pireneusok természetes akadály, az izolációs távolság és az interglaciális visszanépesedési folyamat.

Észak- és Közép-Olaszországban két éves periódus alatt vizsgálták az *Apis mellifera ligustica* fajta sperma felhasználását természetesen pározott anyák esetében. Hat anya utódait mikroszatellit segítségével különítették el két egymást követő peterakási időszak alatt. Az A76 marker egyedülként volt megfelelő, hogy az anyák utódainak genotípusát megkülönböztessék. Az allélgyakoriság közötti különbség hiánya, valamint az allélgyakoriság hasonló megoszlása bizonyítja, hogy a családok genetikai struktúrájának időleges védelemre van szüksége (Previtali és mtsai, 2008).

Magyarországon mézelő méh diverzitás vizsgálatot RAPD-PCR eljárással végeztek az ÁTK Baromfityénészeti és Genetikai kutatócsoportjában. 6 különböző anyanevelő méhészet 19 méhcsaládjából vettek mintát. Megállapították, hogy a hazai anyanevelő telepek általuk vizsgált szegmense nagyfokú diverzitást mutat (Révai és mtsai, 2009).

MIKROSZATELLIT MARKEREKKEL VÉGZETT VIZSGÁLATOK AZ AMERIKAI KONTINENSEN

Az afrikanizálódott méh vagy „gyilkos” méh kifejezést többször hallható. Az afrikanizálódott méh alapító populációja egy afrikai alfajtól származik (*Apis mellifera scutellata*), melyet Dél-Afrikából hoztak Brazíliába 1956-ban. A már korábban behozott európai populációval való keresztezés célja az volt, hogy olyan hibridet hozzanak létre, mely jobban adaptálódik a trópusi körülményekhez és jobb a méztermelési eredménye (Kerr, 1967). Egy sajnálatos baleset miatt kiszabadult méhcsalád elterjedt a természetes környezetben (Spivak és mtsai, 1991) és folyamatosan szaporodva terjeszkedett dél és Közép-Amerikában. Tizenegy évig folyamatosan megfigyelték az Egyesült Államok déli részének vad méhpopulációit különös tekintettel az afrikanizálódásra. Az összesen 428 méhmintán elvégzett vizsgálatok mikroszatellit (A14, A7, A88, A107, A113, A35, A28, A79, A43, A8, IM, ED1) adatai kimutatták, hogy az afrikanizálódás folyamata maga után vonta az anyai és az apai kétirányú génáramlást az európai és az afrikanizálódott méhpopulációk között. A pánmiktikus (a párosodások random módon következnek be) amerikai populáció kicserélődött pánmiktikus kevert *Apis mellifera scutellata* populációvá. Az amerikai méhek génjei közel öt év alatt afrikanizálódtak és a dél-texasi populációban találták meg a legtöbb hibrid rajt (Pinto és mtsai, 2005).

Brazília déli részén megállapították hét heregyülekező helyen megjelenő herék genetikai struktúráját a fent említett okok miatt. A vizsgálathoz hét mikroszatellit markert alkalmaztak. A heregyülekező helyek közül négy közel volt az afrikanizálódott területekhez, három pedig európai származású méheket tartó hagyományos méhészetekhez. Az eredmények alapján nagy genetikai hasonlóságot detektáltak az elméletileg hagyományos európai származású herék, és afrikanizálódott társaik között (Collet és mtsai, 2009).

MIKROSZATELLIT MARKEREKKEL VÉGZETT VIZSGÁLAT INDIÁBAN

ÉK-Indiában nyolc mikroszatellit marker (A88, A14, A107, A76, Ad3, A24, Tc3-302, B124) felhasználásával vizsgálták az óriás házi méh (*Apis dorsata*) genetikai struktúráját. A faj szezonálisan vándorol a téli és a nyári fészkelő helyek között. A faj kolóniái között van egy erős tendencia, miszerint a fészkelési helyeken csoportosulnak, ahol több mint 150 kolónia is elkülönül. E viselkedés miatt arra következtettek, hogy a csoportosult kolóniák között szorosabb rokoni kapcsolatnak kell lennie, mint a random kolóniák esetén. Viszont a nagy távolságú migráció minimalizálja a genetikai különbséget mind a geográfiai területek, mind a csoportosulások között. Bebizonyították, hogy szignifikáns genetikai különbség van a csoportosulási helyekről gyűjtött minták között (Raar és mtsai, 2004).

MIKROSZATELLIT MARKEREKKEL VÉGZETT VIZSGÁLAT ÁZSIÁBAN

Kínában 21 mikroszatellit marker segítségével vizsgálták a Chang baishan méh (*Apis cerana cerana*) és a Ping hu méhpempőt termelő méh (*Apis mellifera ligustica*) populációinak genetikai diverzitását. Eredményeikkel elméleti alapot kívánnak nyújtani a fajták védelméhez. A genetikai variabilitást populáción belül és populációk között vizsgálták. Az átlagos heterozigotitás minden lokuszra 0.7175 és 0,6755 volt. Ez az érték a nagyfokú genetikai diverzitást és a relatív magas szelekciós potenciált jelzi. Jelentős genetikai különbség van a vizsgált fajták között. Eredményeik alátámasztják, hogy az *Apis cerana cerana* és az *Apis mellifera ligustica* két különböző fajta, így védelmük indokolt (Ting és mtsai, 2008).

MIKROSZATELLIT MARKEREKKEL VÉGZETT VIZSGÁLAT AFRIKÁBAN

Egy Afrikában készült tanulmányban összesen nyolc populációból vettek mintát, melyek Marokkóból, Guineából, Malawiból és dél-Afrikából származtak. Hat mikroszatellit marker segítségével elemezték az egyedeket, és összehasonlították további Európából és a Közel-Keletről származó mintákkal. Eredményeik alapján az afrikai populáció nagyobb genetikai variabilitást hordoz, mint az európai vagy közel-keleti állományok (Franck és mtsai, 2001).

MIKROSZATELLIT MARKEREK EGYÉB FELHASZNÁLÁSI TERÜLETEI

Ritka jelenségek hátterének vizsgálatához is kiváló eszköznek bizonyultak a mikroszatellitok. A dolgozók nőtények, viszont ivarszervük inaktív. Egyes esetekben – mint amikor az anya elpusztul – a dolgozók is rakhatnak megtermékenyítetlen petéket. Ezekből a petékből mindig herefiasítás lesz. A dolgozó által rakott petéket a többi dolgozó megeszi, mivel szorosabb rokoni kapcsolatban vannak az anyától származó herékkel, mint a dolgozó társaiktól származókéktól. Kivételes esetben az a dolgozók által rakott herefiasítást is felnevelik. Ebben az esetben a családot „anarhisztikus” kolóniának nevezzük. 17 polimorf mikroszatellit markerrel

elkülönítették a dolgozók „fiat” és az anya „fiat”. A 214 vizsgált báb közül anya jelenlétében 96 here báb dolgozótól származott, míg a minták 1%-ról nem lehetett megállapítani, hogy dolgozótól vagy anyától származott-e (*Chaline és mtsai*, 2002).

A mintavételi lehetőségek finomításában is szerepet kapnak a mikroszatellitiek. A méhcsaládokban számos dolgozó van, így a mintavétel könnyen elvégezhető, de az anya a család túlélésének záloga. Számos molekuláris genetikai vizsgálathoz az anya génkészletének vizsgálata szükséges. A 46 teljes szárny mintát összehasonlították a 44 csáp és a 35 szárnycsúcs mintával 4 általánosan alkalmazott mikroszatellit marker (A76, A107, A113, B124) felhasználásával. Kimutatták, hogy az anya szárnyvégéből vett minta megfelelő DNS-t biztosít a PCR amplifikáció számára 94,3%-os eredményességgel (*Chaline és mtsai*, 2004).

IRODALOM

- Bakos K. – Veress Gy. – Korom E. – Pinke O. – Kovács B. – Varga L. (2008): 52 új pulyka mikroszatellit izolálása és térképezése. *Animal welfare, etology and housing systems*, 4. 409.
- Baudry, E. – Solignac, M. – Garnery, L. – Gries, M. – Cornuet, J.-M. – Koeniger, N. (1998): Relatedness among honeybee (*Apis mellifera*) of a drone congregation. *Proc. R. Soc. Lond. B.*, 265. 2009–2014.
- Chaline, N. – Ratnieks, F.L.W. – Burke, T. (2002): Anarchy in the UK: Detailed genetic analysis of worker reproduction in a naturally occurring British anarchistic honeybee, *Apis mellifera*, colony using DNA microsatellites. *Mol. Ecol.*, 11. 1795–1803.
- Chaline, N. – Ratnieks, F.L.W. – Raine, N.E. – Badcock, N.S. – Burke, T. (2004): Non-lethal sampling of honey bee, *Apis mellifera*, DNA using wing tips. *Apidologie*, 35. 311–318.
- Collet, T. – Cristino, A.S. – Quiroga, C.F.P. – Soares, A.E.E. – Del Lama, M.A. (2009): Genetic structure of drone congregation areas of Africanized honeybees in southern Brazil. *Genet. Mol. Biol.*, 32.4. 857–863.
- Dall'Olio, R. – Marino, A. – Lodesani, M. – Moritz, R.F.A. (2007): Genetic characterization of Italian honeybees, *Apis mellifera ligustica*, based on microsatellite DNA polymorphisms. *Apidologie*, 38. 207–217.
- Davis, S.K. – Strassmann, J.E. – Huges, C. – Pletscher, L.S. – Templeton, A.R. (1990): Population structure and kinship in *Polister* (Hymenoptera, Vespidae): An analysis using ribosomal DNA and protein electrophoresis. *Evolution*, 44. 1242–1253.
- De La Rúa, P. – Galián, J. – Serrano, J. – Moritz, R.F.A. (2003): Genetic structure of Balearic honeybee populations based on microsatellite polymorphism. *Genet. Sel. Evol.*, 35. 339–350.
- Estoup, A. – Lionel, G. – Solignac, M. – Cornuet, J.-M. (1995a): Microsatellite variation in honey bee (*Apis mellifera* L.) populations: Hierarchical genetic structure and test of the infinite allele and stepwise mutation models. *Genetics*, 140. 679–695.
- Estoup, A. – Solignac, M. – Cornuet, J.-M. (1994): Precise assessment of the number of matings and of relatedness in honey bee colonies. *Proc. Roy. Soc. London. B. Biol. Sci.*, 258. 1–7.
- Estoup, A. – Solignac, M. – Harry, M. – Cornuet, J.-M. (1993): Characterization of (GT)_n and (CT)_n microsatellites in two-insect species: *Apis mellifera* and *Bombus terrestris*. *Nucl. Ac. Res.*, 21. 1427–1431.
- Estoup, A. – Tailliez, C. – Cornuet, J.-M. – Solignac, M. (1995b): Size homoplasmy and mutational processes of interrupted microsatellites in two bee species, *Apis mellifera* and *Bombus terrestris* (Apidae). *Mol. Biol. Evol.*, 12. 1074–1084.
- Fésüs L. – Komlósi I. – Varga L. – Zsolnai A. (2000): Molekuláris genetikai módszerek alkalmazása az állattenyésztésben. *Agroinform Kiadó és Nyomda Kft. Budapest*.
- Fondrk, M.K. – Page, R.E. – Hunt, G.J. (1993): Paternity analysis of worker honeybees using randomly amplified polyorphic DNA. *Naturwissenschaften*, 80. 226–231.
- Franck, P. – Garnery, L. – Solignac, M. – Cornuet, J.-M. (2000): Molecular confirmation of a Middle East lineage in *Apis mellifera*. *Apidologie*, 31. 167–180.

- Franck, P. – Garnery, L. – Loiseau, A. – Oldroyd, B.P. – Hepburn, H.R. – Solignac, M. – Cornuet, J.-M. (2001): Genetic diversity of the honeybee in Africa: microsatellite and mitochondrial data. *Heredity*, 86. 420–430.
- Garnery, L. – Franck, P. – Baudry, E. – Vautrin, D. – Cornuet, J.-M. – Solignac, M. (1998): Genetic diversity of the west European honey bee (*Apis mellifera mellifera* and *A. m. iberica*). II. Microsatellite loci. *Genet. Sel. Evol.*, 30. S49–S74.
- Glenn, T.C. (1995): Microsatellite manual, version 6. Available electronically via [ftp://onxy.si.edu/protocols/msatmanV6.rtf](http://onxy.si.edu/protocols/msatmanV6.rtf).
- Jensen, A.B. – Palmer, K.A. – Boomsma, J.J. – Pedersen, B.V. (2005): Varying degrees of *Apis mellifera ligustica* introgression in protected populations of the black honeybee, *Apis mellifera mellifera*, in northwest Europe. *Mol. Ecol.*, 14. 93–106.
- Jensen, A.B. – Pedersen, B.V. (2005): Honeybee conservation: a case story from Laeso Island, Denmark, in Lodesami M., Costa C. (Eds.), *Beekeeping and conserving biodiversity of honeybee. Sustainable bee breeding. Theoretical and practical guide*. Northern Bee Books, Hebden Bridge, 142–164.
- Katti, M.V. – Ranjekar, P.K. – Gupta, V.S. (2001): Differential distribution of simple sequence repeats in eucaryotic genomes. *Mol. Biol. Evol.*, 18. 1161–1167.
- Kerr, W.E. (1967): The history of the introduction of African bees to Brasil. *S. Afr. Bee. J.*, 2. 3–5.
- Maul, V. – Hahnle, A. (1994): Morphometric studies with pure bred stock of *Apis mellifera carnica* Pollmann from Hessen. *Apidologie*, 25. 119–132.
- Miguel, I. – Iriondo, M. – Garnery, L. – Sheppard, W.S. – Estonba, A. (2007): Gene flow within the M evolutionary lineage of *Apis mellifera*: role of the Pyrenees, isolation by distance and post-glacial re-colonization routes in the western Europe. *Apidologie*, 38. 141–155.
- Oldroyd B.P. – Sylvester, H.A. – Wongsiri, S. – Rinderer, T.E. (1994): Task specialization in a wild bee, *Apis florea* (Hymenoptera: Apidae), revealed by RFLP banding. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 34. 25–30.
- Pinto, A.M. – Rubic, W.L. – Patton, J.C. – Coulson, R.N. – Johnston, J.S. (2005): Africanization in the United States. *Genetics*, 170. 1653–1665.
- Previtali, C. – Bongioni, G. – Costa, C. – Lodesani, M. – Galli, A. (2008): Observation by microsatellite DNA analysis of sperm usage in naturally mated honeybee queens (*Apis mellifera ligustica*) over a period of two years. *Ital. J. Anim. Sci.*, 7. 465–478.
- Raar, J. – Oldroyd, B. P. – Huettinger, E. – Kastberger, G. (2004): Genetic structure of an *Apis dorsata* population: The significance of migration and colony aggregation. *Journal of Heredity*, 95. 119–126.
- Révai T. – Török É. – Bodzsár N. – Zajác E. – Békési L. – Szalai-Mátra E. – Hidas A. (2009): Genetic diversity of Hungarian honeybee colonies based on morphological and RAPD markers. COLOSS Workshop new molecular tools. Bern, Switzerland, 12–21 May, 24.
- Rowe, D.J. – Rinderer, T.E. – Stelzer, J.A. – Oldroyd, B.P. – Crozier, R.H. (1997): Seven polymorphic microsatellite loci in honeybees (*Apis mellifera*). *Insects Soc.*, 44. 85–93.
- Ruttner F. – Tassencourt, L. – Louveaux, J. (1978): Biometrical-statistical analysis of the geographic variability of *Apis mellifera* L. *Apidologie*, 9. 363–381.
- Ruttner, F. (1988): *Biogeography and Taxonomy of Honeybees*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
- Solignac, M. – Moguel, F. – Vautrin, D. – Monnerot, M. – Cornuet, J.-M. (2007): A third-generation microsatellite-based linkage map of the honey bee, *Apis mellifera*, and its comparison with the sequence-based physical map. *Genome Biol.*, 8(4). R66.
- Solignac, M. – Vautrin, D. – Baudry, E. – Moguel, F. – Loiseau, A. – Cornuet, J.-M. (2004): A microsatellite-based linkage map of the honeybee, *Apis mellifera* L. *Genetics*, 167. 253–262.
- Solignac, M. – Vautrin, D. – Loiseau, A. – Moguel, F. – Baudry, E. – Estoup, A. – Garnery, L. – Habert, M. – Cornuet, J.-M. (2003): Five hundred and fifty microsatellite markers for the study of the honeybee (*Apis mellifera* L.) genome. *Mol. Ecol. Notes*, 3. 307–311.
- Spivak, M.D. – Fletcher, J.C. – Breed, M.D. (1991): *Introduction the „African“ honey bee*. Westview Press. Boulder, CO. 1–9.
- The Honeybee Genome Sequencing Consortium (2006): Insights into social insects from the genome of the honeybee *Apis mellifera*. *Nature*, 443. 931–949.
- Ting, J. – Ling, Y. – Min, L. – Wen-Bin, B. – Guo-Hong, C. (2008): Study on genetic diversity of *Apis cerana cerana* and *Apis mellifera ligustica* in China with microsatellite markers. *Res. J. Anim. Sci.*, 2(6). 178–182.
- Weber, J.L. (1990): Informativeness of human (dC-dA) (dG-dT) polymorphisms. *Genomics*, 7. 524–530.

Érkezett: 2011. április

Szerzők címe: Zakar E. – Oláh J. – Jávora A. – Kusza Sz.
Debreceni Egyetem, Agrár- és Gazdálkodástudományok Centruma
Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar
Diószegi Sámuel Agrárinnovációs Intézet

Authors' address: University of Debrecen,
Centre of Agricultural and Applied Economic Sciences
Faculty of Agricultural and Food Sciences and Environmental Management
Institute of Sámuel Diószegi Agricultural Innovation
H-4032 Debrecen, Böszörményi út 138.
kusza@agr.unideb.hu