



MAGYARORSZÁGON ÉLŐ PANNON MÉH CSALÁDOK GENETIKAI ÖSSZETÉTELÉNEK VIZSGÁLATA MOLEKULÁRIS MARKEREK ALAPJÁN

BALÁZS RÉKA^{1,3} – EDVINÉ-MELEG ERIKA^{1,3} – HIDAS ANDRÁS^{2,3} – ZAJÁ CZ EDIT³ – RÁCZ TIMEA³ - PÁLINKÁS-BODZSÁR NÓRA³

¹Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Állatbiotechnológiai és Állattudományi Doktori Iskola

2100 Gödöllő, Páter Károly út 1.

²Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Állattenyésztési Tudományok Intézet
2100 Gödöllő, Páter Károly út 1.

³Nemzeti Biodiverzitás- és Génmegőrzési Központ, Haszonállat Génmegőrzési Intézet
2100, Gödöllő, Isaszegi út 200.

ÖSSZEFOGLALÁS

A mézelő méh számos alfaja ismert szerte a világon. Magyarországon ma kizárólag a pannon méh (*Apis mellifera carnica pannonica*) tenyészthető, mely 2012 óta államilag elismert fajta. Számos, a méhek egyedi szaporodásbiológiai és genetikai tulajdonságainak vizsgálatára irányuló kutatás folyik, így támogatva többek között a génmegőrzést is. A genetikai diverzitás csökkenése a méhekre nézve különösen kritikus, hiszen az ivari allélok homozigóta formája letalitást okoz, így a sokféleség fenntartása még fontosabb. Ugyanakkor felmerül a kérdés, hogy egy adott pillanatban felmért genetikai változatosság meddig aktuális, ezért megvizsgáltuk egy-egy méhcsalád genetikai összetételének változását egy szezon alatt. A mintavétel az NBGK-HGI által kezelt állományokból történt, melyeket mikroszatellit marker analízissel jellemeztünk. Eredményeink szerint egy adott időpontban felmért genetikai diverzitás relevánsnak mondható, amíg semmilyen tervezett, vagy nem várt külső hatás nem éri a családokat.

INVESTIGATION OF THE GENETIC COMPOSITION OF PANNONIAN BEE FAMILIES IN HUNGARY BASED ON MOLECULAR MARKERS

ABSTRACT

Many subspecies of the honey bee are known from all over the world. In Hungary today, only the Pannonian bee can be bred, which has been an officially recognised breed since 2012. Several studies can be found in the literature which investigate their unique reproductive biology and genetic traits; that support gene conservation. The decrease of

genetic diversity is particularly critical for bees, as the homozygous form of sex alleles causes lethality; therefore in this case maintaining diversity is even more important. However, the question is how long the genetic variation measured at a given moment is valid, so the change in the genetic composition of a bee family was investigated over a season. Samples were taken from colonies maintained by NBGK-HGI and were characterized by microsatellite marker analysis. Our results show that the genetic diversity assessed at a given point in time can be considered relevant as long as the populations are not affected by planned or unexpected external influences.

BEVEZETÉS

Mézelő méh populációk helyzete a világon

A méheknek hatalmas jelentőségük van a szárazföldi ökoszisztémákban a vadon élő és a mezőgazdasági növények beporzása által (Klein *et al.*, 2007). Az *Apis mellifera* hasznosítását a mezőgazdaság korai kezdetére, a neolitikus földművelő közösségekhez kötik (Roffet-Salque *et al.*, 2015). A termékeiket, úgymint a méhviaszt, a méhpempőt, a mézet, a méhmérget és a méhkenyerét napjainkban is hasznosítja az ember.

Ugyanakkor a méhek pusztulásáról a világ számos területéről lehet hallani, például Európából és Amerikából. Hazánkban néhány permetezőszer betiltásra is került védelmük érdekében (NÉBIH, 2012). A peszticideken kívül más negatív hatások is csökkenthetik a méhállományokat, mint a különböző méhbetegségek (Noël *et al.*, 2020), a természetes élőhelyeik egyre nagyobb mértékű csökkenése (Zayed, 2009), az éhezés, illetve a kedvezőtlen téli időjárás. Utóbbi kettő tényező hatása mérsékelhető a megfelelő méhészeti beavatkozásokkal, így például a kaptárak téli becsomagolásával, kiegészítő takarmányozással, és a megfelelő szellőzés biztosításával, csökkenthető a téli veszteség (vanEngelsdorp *et al.*, 2010).

A mézelő méhfajták megőrzését, védelmét nehezíti, hogy nem kontrollálható, hogy milyen fajta herékkel párizik a méhanya, ugyanis az anyabölcső elhagyását követően kirepül, és az akár 15 km távolságban lévő here-gyülekezőhelyen több hímmel is párizik (Jensen *et al.*, 2005). A kirepülések számát több tényező befolyásolja, például a környezet vagy a sikeres párzások száma (Heidinger *et al.*, 2014). A kaptárba visszatérve az anya a magtarisznyájába (spermatheca) elraktározza a spermiumokat, melyek egy részét az élete folyamán a peterakáshoz felhasználja (Ruttner & Koeniger, 1971).

A peterakás a párzást vagy inszeminálást követő 3-33 nap után kezdődik el (Gerula *et al.*, 2012), és onnantól naponta akár 1500 petét is rakhat az anya (Kocher *et al.*, 2010). Egy család egy méhanyából, 10.000-80.000 dolgozóból, és aktív időszakban (tavasz-nyár vége) néhány ezer heréből áll (Vékey, 1984). Genetikai sajátosságuk, hogy a herék haploidok, vagyis egyszeres kromoszóma készlettel rendelkeznek ($n=16$). Az általuk termelt spermium genetikai anyaga átfedésben van az anyáéval, így annak genotípusára következtetni lehet a herék vizsgálatából. Az anyák és a dolgozók diploidok, ami azt jelenti, hogy kétszeres kromoszóma szerelvényük van ($2n=32$) (Beye *et al.*, 2003). A dolgozók genetikai anyaga egyaránt tartalmazza az anyai és apai oldal örökítő anyagát.

Azonban a szakirodalmi források (*Estoup et al.*, 1994, *Kryger et al.*, 2000, *Jensen*, 2005, *Kryger & Moritz*, 1997, *Tarpy et al.*, 2004) és a szakmai vélemények (*Szalaiiné et al.*, 2008) eltérnek egymástól a tekintetben, hogy a különböző heréktől származó spermiumok az anya magtarisznyájában keverednek-e a raktározás során, vagy külön-külön tárolódnak a párást követően, így a herék egymás után járulnak hozzá az utódnemzéshez. Az állományok fenntartása tenyésztői és génmegőrzési szempontból is érdekes és nehézkes, mivel egy-egy család genetikai összetétele folyamatosan változhat.

Magyarországon az elmúlt 10 évben nem volt megfigyelhető csökkenés a méhészetek és a méhcsaládok számában, illetve az átlagos méhsűrűség tekintetében (*Bross*, 2023). Azonban, ahogy más állatfajoknál, a mézelő méhek esetében is nagy veszélyt jelent a genetikai sokféleség csökkenése. *Themudo és munkatársai* (2020) múzeumi gyűjteményekben tárolt európai méheket hasonlítottak össze a napjainkban is élő méhekkel. A vizsgálat során megállapították, hogy a ma élő méhek genetikai diverzitása csökkent az egyes evolúciós vonalakban a múlt századi állományokhoz képest. Komoly problémát jelenthet a genetikai sokszínűségük csökkenése, mert a mézelő méh (*Apis mellifera*) esetében a nemet az ivari allél száma és homo/heterozigóta formájú megjelenése határozza meg. Ugyanis, ha az egyed diploid és az ivari alléljai homozigóták, akkor herévé fejlődik (*Beye et al.*, 2003), amely általában életképtelen vagy steril lesz (*Heimpel & de Boer*, 2008). Korábban 19féle ivari allélt írtak le (*Glenn*, 2002), viszont lokálisan 53 félélt, világ szinten 87 ivari allélt találtak a mézelő méhekben, azonban feltételezik, hogy az egész világon 116-145féle létezik (*Lechner et al.*, 2014).

A diverzitás csökkenésének oka lehet a méhanyak teljesítőképessége alapján történő erős szelekció a herék figyelmen kívül hagyásával, illetve hogy a méhészetek nem képesek fenntartani a genetikai változatosságot fajtatizta állományokban.

Továbbá nagy problémát jelent a nemzetközi kereskedelem, forgalomban lévő méhfajták, például az olasz méh (*Apis mellifera ligustica*) behozatala országunkba, hiszen képes az itthon honos pannon méhhez szaporodni. Péntek-Zakar és munkatársai (2015) a magyarországi állományoknál igazolták az olasz méh (*Apis mellifera ligustica*) (2,5%), a Buckfast-hibrid (*Apis mellifera buckfast*) (1,7%) és az északi méh (*Apis mellifera mellifera*) (2,2%) jelenlétét is.

KUTATÁSI CÉL

A kutatás egyik fő célja, hogy felmérésre kerüljön a pannon méh genetikai diverzitása Magyarországon. Felmerült a kérdés, hogy ezek az eredmények, és a belőlük levont következtetések meddig lehetnek érvényesek, egy adott genotípus mennyire jellemez egy méhcsaládot. Ehhez szükség van a méhcsaládok genetikai szerkezetének, sajátosságainak vizsgálatára. Az egyes mintavételezési időintervallumokban detektált allélok megléte/hiánya, illetve változása jelezheti, hogy mennyi idő alatt cserélődik le, és mennyire homogén a dolgozói állomány, valóban egyféle genotípust termel-e a méhanya, továbbá, hogy a felmért genetikai diverzitás meddig aktuális.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Egy korábbi vizsgálatunk során, melyben a Nemzeti Biodiverzitás és Génmegőrzési Központ (NBGK) Méhészeti és Méhbiológiai Osztálya által kezelt pannon méhállományból 5 család vett részt (10 idős, 10 fiatal dolgozó és 10 here/ család), mikroszatellit markerek használatával megállapítottuk, hogy a herék jól mutatták az adott méhanya genotípusát. A családokon belüli egyedek átfedésben voltak egymással, ami az anya állandóságára utal. Ugyanakkor a herék esetében az allélszám a várt helyett 2 és 4 között változott, amiből arra következtettünk, hogy más kaptárból származó egyedek is bekerülhettek a vizsgálatba.

Emiatt újraterveztük a kísérletet, és az NBGK gondozásában lévő pannon méh fajta 35 családjának nyitott fiasításaiból (here és dolgozó lárva) végeztük el az ismételt mintavételezést jelen munkánkban, mellyel kiküszöböltük az idegen kaptárból származó dolgozók és herék bevonását (*1. ábra*).



1. ábra: NBGK által kezelt pannon méh fajta családjai

Ezen túlmenően nagyobb figyelmet fordítottunk a méhészeti gyakorlatban bevált méhcsaládok közti keretcserek elkerülésére, valamint az azonos korú egyedekből a mintavételek számát is megnöveltük. Tavasztól őszig háromhetente gyűjtöttük azokat, mivel a dolgozók 4-6 hétig élnek a nyári időszakban. A mintákat további felhasználásig $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on fagyasztva tároltuk.



2. ábra: Feldolgozásra váró dolgozó lárva

Az utolsó minták beérkezését követően összegeztük az egyes méhcsaládokról készített évközi feljegyzéseket, hiszen csak azokat érdemes vizsgálni genetikai összetétel, illetve annak változása tekintetében, melyeket az év során semmilyen, vagy nagyon csekély külső hatás (például méhanya-váltás, rajzás) érintett. Ezen információk alapján 5 méhcsalád került kiválasztásra, melyek 5 mintavételt követően még értékelhető mennyiségű vizsgálendő egyedszámot tudtak nyújtani. Családonként és mintavételenként 8 dolgozó és 8 here álcát (lárva minta) dolgoztunk fel (2. ábra), ami a teljes vizsgálati időszakra számolva (5 mintavétel tavasztól őszig) összesen 304 méhmintát jelent, mind az 5 méhcsaládot figyelembe véve.

A dolgozó és here álcákból a genomi DNS izolálását *Latorre és munkatársai* (1986), *Péntek-Zakar* (2014) által módosított módszere alapján végeztük el, melyet a DNS koncentráció mérése (Thermo Scientific NanoDrop 2000c) és a minták 6 ng/μl töménységűre történő egalizálása követett. A mintákat 7 mikroszatellit marker segítségével genotipizáltuk, melyeket a szakirodalomból választottunk ki polimorfizmus információ tartalmuk alapján (*Estoup et al.*, 1993, *Estoup et al.*, 1995, *Garnery et al.*, 1998, *Solignac et al.*, 2003, *Techer et al.*, 2014).

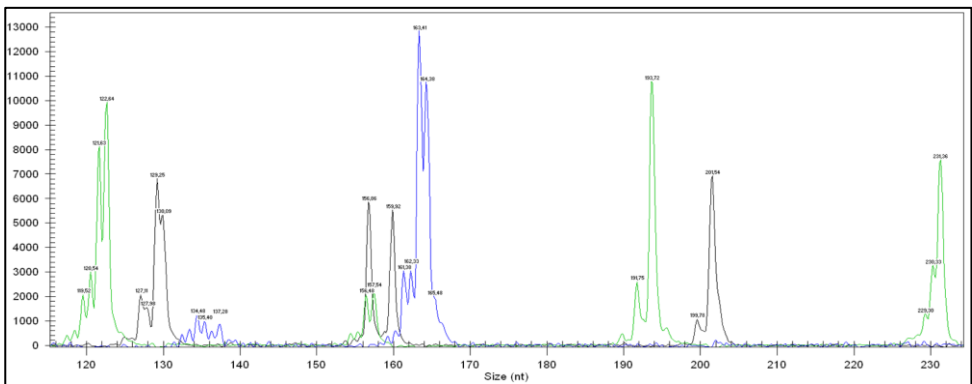
A vizsgálat idő- és költségkímélőbbé tétele érdekében ún. farkas primereket használtunk. Ennek lényege, hogy nem közvetlenül jelölt primereket alkalmaztunk, hanem azok forward szekvenciáinak 5' vége elé egy 18 bp hosszúságú szekvenciát

illesztettünk, magát a fark szekvenciát pedig 3 eltérő fluoreszcens festékkel (WELL-RED) jelöltük (D2: fekete, D3: zöld, D4: kék). Így lehetőség nyílt megfelelő optimalizálással marker szett kialakítására PCR reakciókon belüli multiplexálással és/vagy a PCR termékek poolozásával, vagyis egyidejűleg több markerrel zajlott a genotipizálás.

A PCR termékek detektálása kapilláris gélelektroforézissel, Beckman Coulter automata DNS szekvenátor segítségével, az allélméretek meghatározása pedig 400 bp hosszúságú allél létra használatával történt, a gyártó leírása alapján.

EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

Az eredményeket a szekvenátor saját értékelő programja segítségével mintánként elemeztük (3. ábra).



3. ábra: A multiplex reakció mikroszatellit analízisének eredménye (allélméret: nt) egy minta esetén

A színek a fluoreszcens festékkel való jelölést prezentálják (D2: fekete, D3: zöld, D4: kék), a különböző magasságú csúcsok a fragmentek eltérő intenzitását jelzik.

A herék adataiból megállapítható a méhanya vélhető genotípusa, melyek a dolgozókra vetítve meghatározzák azok apai alléljait.

Az utolsó mintavételeknél, amikor már a méhek esetében az aktív időszak a végéhez közeledik, nincs herefiasítás, ezért egyre kevesebb here álca volt elérhető és gyűjthető. A mintaszám csökkenése ellenére, eredményeink alapján, miszerint a herék jól tükrözték a méhanya genotípusát, mégis úgy gondoljuk, hogy releváns információkat kaptunk a genetikai összetételről, illetve annak változásáról (1. táblázat).

Az eddigi eredmények azt sugallják, hogy a here egyedek alléljai nem változtak az egyes mintavételek során, így feltételezhetően ugyanattól a méhanyától származtak egy családon belül, akárcsak a dolgozó méhek. Kivételt egy család jelentett, ahol a 4.

mintavételtől kezdve új allél jelent meg a génkészletben, ebben a családban feltételezhetően új anya kezdte el a petézést.

Az utódnemzedék kialakításában a teljes, általunk vizsgált időszakban minimum 6-7 különböző herétől származó spermium vett részt. A szakirodalom szerint átlagosan 12 here pázik egy anyával (*Tarpy et al.*, 2004), de az apák száma a 12-24-et is elérheti (*Estoup et al.*, 1994, *Kryger et al.*, 2000, *Jensen*, 2005, *Kryger & Moritz*, 1997). Egy-egy mintavételi időpontban minimum 3-6 herétől származtak a dolgozók.

Ugyanakkor az apák utódnemzésben való részvétele eltérő volt a különböző mintavételi időpontokban, aminek oka esetünkben lehet akár a kevés vizsgált elemszám, azonban ezt a megfigyelést a szakirodalomban is leírták. *Franck et al.* (2002) 8 család vizsgálatának eredménye az sugallja, hogy az összes here, akivel párosodott az anya, jelen volt a család kialakításában, csak az arányuk eltérő. Eredményeik alapján a herék részvételét az utógenerációban nem befolyásolta, hogy elsőként vagy utolsóként pározott.

2. táblázat: Egy méhcsalád mikroszatellit markerek alapján detektált allélékszelete (bp) minta típusonként a teljes vizsgálati időszakban (5 mintavétel)

Mintavétel		Mikroszatellit marker						
Száma	Típusa	A007	A107	Ac011	Ap043	Ap081	Ap055	Ap226
		<i>Allélméret (bp)</i>						
1.	Dolgozó	123	176	133	153	147	191	249
		134	178	135	159	155	193	255
		136	182	137	161		195	257
			186	139	163			263
			189					
	Here	134	182	137	159	147	191	255
		189	139	163		193		
2.	Dolgozó	123	176	133	153	147	191	249
		134	178	135	159	155	193	255
		136	182	137	161		195	257
			184	139	163			263
			189					
	Here	134	182	137	159	147	191	255
		189	139	163		193		
3.	Dolgozó	123	176	133	153	147	191	255
		134	178	135	159	155	193	257
		136	180	137	161	157	199	
			182	139	163			
			184					
		186						
	189							
Here	134	182	137	159	147	191	255	
		189	139	163		193		
4.	Dolgozó	123	176	133	153	147	191	249
		134	178	135	155	155	193	255
		136	180	137	159		195	257
			182	139	161		197	263
			189		163			
	Here	134	182	137	159	147	191	255
		189	139	163		193		
5.	Dolgozó	134	176	133	153	147	191	249
		136	180	135	155	155	193	255
			182	137	159		197	257
			184	139	161			
			186		163			
			189					

KÖVETKEZTETÉS ÉS JAVASLAT

Eredményeink alapján arra következtethetünk, hogy egy adott időpontban felmért genetikai diverzitás relevánsnak mondható, mindaddig, amíg egy külső tervezett, vagy véletlen hatás miatt ez meg nem változik. Ilyen hatás lehet például a méhanya-váltás akár méhészs, akár természetes lecserélődés, vagy rajzás által.

A nyitott fiasításokból történő mintavétel megfelelőnek bizonyult, mivel így kizártuk azt, hogy másik kaptárból származó dolgozó egyedet is az adott családhoz számítsunk és megvizsgáljunk. Ugyanakkor ez a módszer alkalmas más családból származó herék és dolgozók azonosítására, valamint a méhanya-váltás tényének megállapítására is, mely a méhészetekben nyújthat segítséget.

Mivel az anya átlagosan 12 herével párzik (*Tarpy et al.*, 2004), későbbi vizsgálatoknál javasolt a mintaszám megnövelése. Ugyanakkor, időről-időre érdemes újra monitorozni az állományokat, különösen, ha új méhanya kerül a családba, hiszen eltérő allélkészlettel rendelkezhet. Ez azonban nem feltétlenül van befolyással a genetikai sokféleség változására, mivel egy másféle allélkészlet ugyanúgy eredményezhet egy megfelelő mértékű diverzitást.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Munkánkat az NBGK 1049/2018. (II. 20.) Korm. határozat szerinti génmegőrzési stratégiai programja támogatta.

IRODALOMJEGYZÉK

Beye M. - Hasselmann M. - Fondrk M.K. - Page R.E.Jr. - Omholt S.W. (2003): The gene *csd* is the primary signal for sexual development in the honey bee and encodes a SR-type protein. *Cell*, 114: 419–429.

Bross P. (szerk.) (2023): Méhészetek, méhcsaládok száma 2022. *Méhészet*. 71 (110): 5. szám 27.

Estoup A. - Garnery L. - Solignac M. - Cornuet J.M. (1995): Microsatellite variation in honey bee (*Apis mellifera* L.) populations: hierarchical genetic structure and test of the infinite allele and stepwise mutation models. *Genetics*, 140: 679–695.

Estoup A. - Solignac M. - Cornuet J.M. (1994): Precise Assessment of the Number of Patriline and of Genetic Relatedness in Honeybee Colonies. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 258 (1351): 1–7.

Estoup A. - Solignac M. - Harry M. - Cornuet J.M. (1993): Characterization of (GT)*n* and (CT)*m* microsatellites in two insect species: *Apis mellifera* and *Bombus terrestris*. *Nucleic Acids Research*, 21 (6): 1427–1431.

Franck P. - Solignac M. - Vautrin D. - Cornuet J.M., Koeniger G. - Koeniger N. (2002): Sperm competition and last-male precedence in the honeybee. *Anim Behav*, 64 (3): 503–509.

- Garnery L. - Franck P. - Baudry E. - Vautrin D. - Cornuet J.M. - Solignac M. (1998):* Genetic biodiversity of the west European honeybee (*Apis mellifera mellifera* and *Apis mellifera iberica*) II. Microsatellite DNA. *Genetics Selection Evolution*, 30 (1): 49-74.
- Gerula D. - Panasiuk B. - Węgrzynowicz P. - Bieñkowska M. (2012):* Instrumental Insemination of Honey Bee Queens During Flight Activity Predisposition Period 2. Number of Spermatozoa in Spermatheca. *Journal of Apicultural Science*, 56 (1). 159 – 167.
- Glenn T. (2002):* Principles of Honeybee Genetics. <http://www.glenn-apiaries.com/principles.html>
- Heidinger I.M.M. - Meixner M.D. - Berg S. - Büchler, R. - Buchler R. (2014):* Observation of the Mating Behavior of Honey Bee (*Apis mellifera* L.) Queens Using Radio-Frequency Identification (RFID): Factors Influencing the Duration and Frequency of Nuptial Flights. *Insects*, 5: 513–527.
- Heimpel G.E. - de Boer J.G. (2008):* Sex Determination in the Hymenoptera. *Annual Review of Entomology*, 53 (1): 209–230.
- Jensen A.B. - Palmer K.A. - Chaline N. - Raine N.E. - Tofilski A. - Martin S.J. - Pedersen B.V. - Boomsma J.J. - Ratnieks F.L.W. (2005):* Quantifying honey bee mating range and isolation in semi-isolated valleys by DNA microsatellite paternity analysis. *Conservation Genetics*, 6 (4): 527–537.
- Klein A.M. - Vaissiere B.E. - Cane J.H. - Steffan-Dewenter I. - Cunningham S.A. - Kremen C. - Tscharntke T. (2007):* Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 274 (1608): 303–313.
- Kocher S.D. - Tarpy D.R. - Grozinger C.M. (2010):* The effects of mating and instrumental insemination on queen honey bee flight behaviour and gene expression. *Insect Molecular Biology*, 19 (2): 153–162.
- Kryger P. - Moritz R.F.A. (1997):* Lack of kin recognition in swarming honeybees (*Apis mellifera*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 40: 271–276.
- Kryger P. - Kryger U. - Moritz R.F.A. (2000):* Genotypical Variability for the Tasks of Water Collecting and Scenting in a Honey Bee Colony. *Ethology*, 106 (9): 769–779.
- Latorre A. - Moya A. - Ayala F.J. (1986):* Evolution of mitochondrial DNA in *Drosophila subobscura*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 83: 8649-8653.
- Lechner S. - Ferretti L. - Schoning C. - Kinuthia W. - Willemsen D. - Hasselmann M. (2014):* Nucleotide variability at its limit? Insights into the number and evolutionary dynamics of the sex-determining specificities of the honey bee *Apis mellifera*. *Mol Biol Evol*, 31 (2): 272-87.
- NÉBIH (2012):*
https://portal.nebih.gov.hu/documents/10182/21468/Neo_honlapra.pdf/1a06be98-80e7-464b-aec1-53a989941f33
- Noël A. - Conte Y.L. - Mondet F. (2020):* *Varroa destructor*: how does it harm *Apis mellifera* honey bees and what can be done about it? *Emerging Topics in Life Sciences*. 4: 45–57.

- Péntek-Zakar E.* (2014): A magyarországi mézelőméh-populációkban (*Apis mellifera carnica pannonica* poll.) megjelenő határ menti fajták kimutatása genetikai és morfológiai módszerekkel. Doktori értekezés, Állattenyésztési Tudományok Doktori Iskola, Debrecen, 150 p.
- Péntek-Zakar E. - Oleksa A. - Borowik T. - Kusza, S.* (2015): Population structure of honey bees in the Carpathian Basin (Hungary) confirms introgression from surrounding subspecies. *Ecology and Evolution*, 5 (23): 5456–5467.
- Roffet-Salque, M. - Regert, M. - Evershed, R. et al.* (2015): Widespread exploitation of the honeybee by early Neolithic farmers. *Nature*, 527: 226–230.
- Ruttner F. - Koeniger G.* (1971): Die Füllung der Spermatheka der Bienenkönigin. *Zeitschrift für Vergleichende. Physiologie*, 72 (4): 411–422.
- Solignac M. - Vautrin D. - Loiseau A. - Mougel F. - Baudry E. - Estoup A. - Garnery L. - Habert M. - Cornuet J.M.* (2003): Five hundred and fifty microsatellite markers for the study of the honeybee (*Apis mellifera* L.) genome. *Molecular Ecology Notes*, 3 (2): 307–311.
- Szalai M.E. - Szalai T. - Szalai D.* (2008): Méhtenyésztés és mesterséges termékenyítés. Egyetemi jegyzet. SZIE, Gödöllő, 72 p.
- Tarpy D.R. - Nielsen R. - Nielsen D.I.* (2004): A scientific note on the revised estimates of effective paternity frequency in *Apis*. *Insectes Soc.*, 51: 203–204.
- Techer, M.A. - Clémencet J. - Turpin P. - Volbert N. - Reynaud B. - Delatte H.* (2014): Genetic characterization of the honeybee (*Apis mellifera*) population of Rodrigues Island, based on microsatellite and mitochondrial DNA. *Apidologie*, 46 (4): 445–454.
- Themudo E.G. - Rey-Iglesia A. - Tascón R.L. - Jensen A.B. -, Fonseca R.R. - Campos P.F.* (2020): Declining genetic diversity of European honeybees along the twentieth century. *Scientific Reports*, 10: 10520.
- vanEngelsdorp D. - Hayes J. - Underwood R.M. - Pettis, J. S.* (2010): A survey of honey bee colony losses in the United States, fall 2008 to spring 2009. *Journal of Apicultural Research*, 49 (1): 7–14.
- Vékey Á.* (1984): A méhcsalád genetikája. *Méhészet* 28 (2): 4.
- Zayed A.* (2009): Bee genetics and conservation. *Apidologie*, 40 (3): 237–262.