

TDK DOLGOZAT

Városi Dominika
2019

Állatorvostudományi Egyetem
Parazitológiai és Állattani Tanszék

Méhcsaládok egészségügyi, produkciósbiológiai, és
környezetanalitikai vizsgálata dél-magyarországi méhészeti
telephelyeken

Készítette: Városi Dominika

Témavezető: Dr. Békési László Szabolcs PhD. habil.

Budapest, 2019

Tartalomjegyzék

| | |
|--|----|
| 1. Bevezetés | 2 |
| 2. Irodalmi áttekintés | 3 |
| 3. Célkitűzések | 5 |
| 4. Anyag és módszer..... | 5 |
| 5. Eredmények..... | 12 |
| 5.1 Időjárás-figyelővel végzett vizsgálatok | 12 |
| 5.2. Nosema vizsgálat | 13 |
| 5.2.1. A <i>Nosema apis</i> és a <i>Nosema ceranae</i> , a betegség terjedése, tünetei, leküzdése, és megelőzése..... | 13 |
| 5.2.2. A nosema vizsgálat eredményei | 14 |
| 5.3. RNS vírusok vizsgálata..... | 15 |
| 5.3.1. Heveny méhbénulás vírus (Acute Bee Paralysis Virus, ABPV)..... | 16 |
| 5.3.2. Fekete anyabölcső vírus (Black Queen Cell Virus, BQCV) | 16 |
| 5.3.3. Krónikus méhbénulás vírus (Chronic Bee Paralysis Virus, CBPV) | 16 |
| 5.3.4. Deformált szárny vírus (Deformed Wing Virus, DWV)..... | 16 |
| 5.3.5. Költéstömlősödés vírus (Sacbrood Virus, SBV)..... | 17 |
| 5.3.6. Kezelés, megelőzés | 17 |
| 5.4. A méhek bélcsatornájának metagenomikai vizsgálata | 17 |
| 5.4. Növényvédő szerek..... | 32 |
| 6. Következtetések..... | 34 |
| 7. Összefoglaló | 37 |
| 8. Summary..... | 38 |
| 9. Irodalomjegyzék | 39 |

1. Bevezetés

A mézelő méhek (*Apis mellifera*) mint legfontosabb beporzók kiemelt szerepet játszanak az ökoszisztémában, az élelmiszer- és takarmányiparban egyaránt, mivel a termőföldeken többnyire ők végzik a virágos növények beporzását. Tehát, ha nincsenek méhek, a termés hozam is csökken. Ezt azonban az „átkemizált” mezőgazdaság látszólag figyelmen kívül hagyja. Az utóbbi évtizedekben világszerte tapasztalható felelőtlen rovarölőszer-használat a termőföldeken a méheket sem kíméli, évről-évre egyre nagyobb mértékben tapasztalható méhpusztulás. Kínában például már olyannyira lecsökkent a méhek száma, hogy van olyan tartomány, ahol kézi erővel, vagy épp drónokkal kell végezni a beporzást a földeken (Goulson, 2012). A pusztulások hátterében nem feltétlenül csupán a rovarölőszeres állnak, hanem a globális felmelegedéssel együtt járó időjárás-változások, kártevők, baktériumok és vírusok is szerepet játszhatnak. Ezt támasztja alá az is, hogy a 2018-ban Magyarországon jelentkező nagymértékű méhpusztulás során a méhészek változatos klinikai tüneteket észleltek a méheken. A méheket érő biológiai, kémiai és fizikai hatások komplex vizsgálata deríthet fényt arra, hogy mik azok a tényezők, amikén változtatva a méhcsaládok számának csökkenése megállítható, hogy az ökoszisztéma egyensúlya ne boruljon fel, és a méztermelés mellett továbbra is számíthatunk méheink fontos és hatékony beporzó tevékenységére.

Személyes érdekeltségem is van ebben a témában: édesapám több, mint harminc éve dolgozik Magyarország legnagyobb mézforgalmazó cégénél, így minden évben értesülök az ágazatban jelentkező aktuális problémákról. Fontosnak tartom a méhek egészségének vizsgálatát, ugyanakkor úgy gondolom, hogy napjainkban a méhekről való gondoskodás nem csak a méhész dolga, hanem a termőföldet használó emberek felelősségén is múlik, így a méhek „megmentése” csak a mezőgazdasági ágazatok közti összefogással és szigorú szabályozásokkal érhető el.

Dolgozatomban a mézelő méhekre ható környezeti tényezők (hőmérséklet, páratartalom) mellett a biológiai ágenseket (RNS vírusok, *Nosema apis*, baktériumok) is vizsgáltam. Kémiai, azaz rovarölőszer-maradvány vizsgálatra sajnos nem volt lehetőségem, mivel az ilyen jellegű komplex kutatás túl költséges lett volna.

A kutatást a Fulmer Kft. három Baranya megyei telephelyén végeztem: Pogányban, Szalántán és Szőkédén. Mindenhol két-két, egy erősebb-, és egy gyengébb méhcsaládot választottam ki a vizsgálatok végzéséhez.

A szakirodalmi áttekintésben a legfontosabb szakkönyveket és cikkeket dolgozom fel a témákban. A célkitűzésben ismertetem a vizsgálat során fennálló problémát, és a hipotézisemet. Az anyag és módszer fejezetben röviden bemutatom a Fulmer Kft-t, bemutatom a vizsgált telephelyeken alkalmazott technológiát, valamint az általam végzett vizsgálatok menetét. Az eredmények című fejezetet öt alfejezetre osztottam; ezekben írok a vizsgálatban szereplő RNS vírusokról, a *Nosema apis*ről, a méh-metagenom vizsgálat során kimutatott fontosabb baktériumokról. Az időjárás-figyelő állomással gyűjtött adatok elemzéséről, valamint röviden a környezeti hatásokról és a növényvédőszer szerepéről is beszámolok. A következtetésben értékelem és összegzem a vizsgálatok eredményeit.

2. Irodalmi áttekintés

Dolgozatom írása során találok olyan témákkal, amelyek bővelkedtek szakirodalomban, azonban főleg a méh-metagenom vizsgálat során felmerülő kérdésekről nagyon kevés tudományos cikk született eddig. A szakirodalmat három szempont szerint vizsgáltam: a méhbetegségek; a méhpusztulások okai; és a méh-metagenom vizsgálat témakörében íródott cikkekre szűkítettem a kutatást.

A méhek biológiája, a méhészkedés alapjai, méhbetegségek (RNS vírusok, nosemosis) témakörében a legfontosabb magyar nyelven íródott szakirodalomnak a témavezetőm könyvét találtam (Békési, 2012). A könyv átfogó képet ad az általam vizsgált szakterületről, és tartalmaz minden olyan fontos információt, amit a méhekről és a méhészkedés alapjairól tudni kell; tárgyalja a gyakoribb méhbetegségeket, amelyek felderítésére én is végeztem vizsgálatokat a kiválasztott méhcsaládoknál. A könyv tartalmaz továbbá egy szakkifejezések jegyzékét, a méhészeti szakszavak angol és német megfelelőjével, ami segítségemre volt az idegen nyelvű cikkek feldolgozása során.

A kötet foglalkozik az ún. kaptárelhagyás (Colony Collapse Disorder – CCD) kórképével és hazai vonatkozásaival, ugyanakkor kevés információt ad azzal kapcsolatban, hogy az újabban észlelt hazai, tömeges méhpusztulások hátterében milyen jelenségek állhatnak. Ezen témakörben szakdolgozatom három fontos cikkre támaszkodott. Magyar nyelven Tóth Péter 2019-es tanulmánya (Tóth, 2019) szolgált irányadóként: Magyarországon a 2018-as év előtt hasonló komplex méhegészségügyi vizsgálat nem történt, a nagymértékű méhpusztulás azonban felhívta a figyelmet a hasonló vizsgálatok iránti igényre. A cikk a 2018-as magyarországi méhpusztulást foglalja össze; megemlíti a lehetséges okokat, az

azok felderítésére irányuló vizsgálat menetét, valamint a méhészek feladatait (főként adatszolgáltatás). Emellett önkritikával is élve a folyamat hibáiról is szó esik: túl későn kezdődő mintavételezés, későn vagy egyáltalán nem jelentett károk, stb. Konklúzióként hasonló megállapításra jut a cikk írója, mint jelen szakdolgozat; a méhpusztulások és a méhek egészségének romlása nem egytényezős probléma, hanem több faktor egymásra hatásának eredménye. A nemzetközi szakirodalomban többek között Doublet et al. (2015) cikkét tanulmányoztam, amely potenciális veszélyforrásként említi a neonikotinoidekat, emellett még a patogén mikroorganizmusok szerepét is érinti. A kutatás során nem csak a felnőtt méhek kerültek górcső alá, hanem a méhcsalád egész életciklusa képezte a vizsgálat tárgyát. Több tanulmány is született már a méheket érő stresszorok hatásairól, azonban ezek jó része nem kontrollált, laboratóriumi körülmények között készült. Gyakori probléma, hogy a vizsgálatokban a méhlegelőkön előforduló növényvédőszer-koncentrációhoz képest magasabb koncentrációkkal dolgoztak. A növényvédő szerek észszerűtlen alkalmazása következményeinek publikálását pedig azért tartom fontosnak, mert Magyarországon is még mindig használnak neonikotinoid hatóanyagú növényvédő szereket, annak ellenére, hogy a beporzókra gyakorolt káros hatásuk régóta ismert, valamint hogy az EU országokban már elvileg tiltott ezeknek a szereknek az alkalmazása. A tanulmány—csakúgy, mint a fent említett magyar cikk—következtetésként azt vonja le, hogy önmagukban nem halálos stresszorok együttesen végzetesek lehetnek a rovarokra. Switanek et al. (2017) tanulmánya az első, amelyben csak az időjárás hosszútávú hatását vizsgálták a méhek túlélésére. Az eső mennyiségének és a hőmérsékletnek a méhek viselkedésére gyakorolt rövidtávú hatása már ismert volt, azonban ebben a tanulmányban az említett két időjárási tényező mellett a szél sebességét és irányát is vizsgálták, hat éven keresztül. A tanulmány konklúziója, hogy a méhek mortalitása az összességében száraz meleg jellemezte hónapok után következő télen magasabb volt. Megjegyzendő azonban, hogy az időjárás hatása a mezőgazdaságban és a méhlegelőt alkotó növények fejlődésében is jelentkezik, így a vegetáció és a méhcsaládok egészségi állapota szorosan összefüggenek.

Méh-metagenom vizsgálattal kapcsolatosan kevés olyan szakirodalom állt rendelkezésemre, amelyben nem kizárólag a normál bélflórát alkotó baktériumokkal foglalkoznak. Jones et al. (2018) tanulmánya rávilágít, hogy a mézelő méhekre jellemző bélflóra baktériumainak mennyisége és aránya nem azonos minden egyedben, hanem a rovarok feladataitól függően változik. Kutatásomban a munkásméhek bélflóráját vizsgáltam közelebbről, így az általam talált baktériumokat össze tudtam hasonlítani a

cikkben tárgyaltakkal. Kwong és Moran (2016) átfogó cikke azon baktériumokat térképezi fel, amelyek normál körülmények között előfordulnak a mézelő méhek bélcsatornájában. Az általam végzett metagenomikai vizsgálat eredményeként kimutatott baktériumokról e cikk segítségével tudtam eldönteni, hogy potenciálisan jótékony hatásúak-e vagy sem.

Összességében a témában fellelhető cikkekről elmondható, hogy többségük az utóbbi 5-8 évben íródott: jól látható a tendencia, hogy egyre több figyelem irányul a méhek egészségi állapotára, mint korábban. A cikkek többsége e szakdolgozathoz hasonlóan rávilágít, hogy komplex, multifaktoriális problémáról van szó. Habár több fontos és átfogó kutatás is született a témában, ezek többsége a méh egyedekre fókuszál, és még mindig számos kérdés áll megválaszolatlanul a patogének és a peszticidek a kolónia szintjén megnyilvánuló hatásairól.

3. Célkitűzések

A Fulmer Kft. mind kipörgetett, mind lépesméz-termeléssel és -értékesítéssel is foglalkozik; a vizsgált telephelyeken lépesméz-termelés folyik. Ennek során a méhek által megtermelt mézet nem pörgetik ki a lépből, hanem benne hagyják és így a legtermészetesebb állapotában értékesítik. A kiválasztott telephelyekre jellemző még, hogy azonos technológiával dolgoznak a méhekkal, mégis az látszik az adatokból, hogy az egyes telephelyek méheinek teljesítménye eltérő. A furcsa jelenséget alapul véve azt a hipotézist állítottam fel, hogy valamilyen külső tényező okozza az egyes telephelyek, valamint az ott megtalálható méhcsaládok termelésbeli különbségeit. A célom annak a kiderítése volt, hogy mi ez az akár időjárásbeli, akár mikrobiológiai, akár a méhlegelők különbségeiből adódó külső tényező, ami gyengítheti a méheket. A szakdolgozat kutatási kérdése tehát a következő: *Milyen külső tényező(k) áll(nak) a méhcsaládok legyengülése és -pusztulása hátterében?* A kérdés megválaszolására megtervezett kísérleteket és módszereket a következő fejezetben ismertetem.

4. Anyag és módszer

A kutatási kérdés megválaszolására három irányba indultam el: a meteorológiai viszonyok összehasonlítása (az esetleges extrém időjárási jelenségek feltérképezésére); e mellett a méhcsaládok gyakori legyengülését okozó egysejtű parazita, a nosema előfordulása,

valamint célzott vírusvizsgálatok. Egy telephely négy méhcsaládján metagenomikai vizsgálatot is végeztem.

A méhcsaládok a Fulmer Kft. tulajdonába tartoznak: a cég több, mint ezer méhcsaláddal rendelkezik, ezzel az egyik legnagyobb méhészet Európában. A tulajdonos méhészcsaládból származik: nagyapja közel száz éve, 1929-ben alapította a család első méhészetét. A vállalkozás továbbra is részben a család tulajdonában áll, habár időközben egyesültek a Csányi méhészettel, a Fulmer nevet továbbra is megtartva. A Fulmer Kft. éves forgalma megközelítőleg 77 millió forint; méretéből és piaci helyzetéből fakadóan fontos és jelentős méhészetről van szó.

A Fulmer Kft. egyik tulajdonosa, Csányi Antal segítségével kiválasztottuk a három vizsgálandó telephelyet; Szalántán, Pogányban, és Szökéden. Ezek a telephelyek azonos technológiával dolgoznak a méhekkel, mégis az egyes telephelyek méheinek teljesítménye eltérő. Az alkalmazott technológiát a következőkben ismertetem.

A méhek 4 cm vastag, zöld színű sztiropol kaptárakban vannak elhelyezve, időponttól függően 1-4 fiókon, minden fiókban 10 Langstroth méretű (44,8 cm × 23,2 cm) kerettel. Beteleléskor, valamint amíg ki nem repülnek tavasszal, egy fiókosak a kaptárak, viszont a hordás csúcsán, nyár közepén akár négy fiókra is bővíthet a család.

A méhek akkor fejezik be a telelést és kezdenek kirepülni a kaptárból, mikor a kinti átlaghőmérséklet eléri a 14°C-ot. Ez általában március végére-április elejére tehető, ekkor a méhészek ellenőrzik a családokat; mennyire gyengültek le, megvan-e az anya, mennyi dolgozó van a kereteken. Repcevirágzáskor (áprilistól május elejéig, kb. 3-4 hét) megduplázzák a családok számát úgy, hogy az anyát és a dolgozók egy részét elveszik az áttelelt családoktól, és új kaptárakba teszik őket. Így az anyátlan dolgozók anyabölcst húznak, és nem rajzanak meg a repcére, ami az áttelelt anyával rendelkező családokkal gyakran előfordul. Mivel az új anya kikelése 16 napot vesz igénybe, a „fiatal” családok csak az akácvirágzás idejére (május-június) rajzanak meg. Ettől kezdve a családok folyamatos monitoring alatt állnak, és ha nem bizonyulnak elég erősnek (például a munkásméhek száma fogy, méretük kisebb az átlagosnál), két gyengébb családot összeraknak (ami a korábbi években csak ritkán fordult elő), így alakítva ki a kívánatos 2-4 fiókos kaptárakat, minden fiókban 10 kerettel. Az akácvirágzás során a keretek csordultig vannak mézzel, azonban —mivel a vizsgált telephelyeken lépesméz-termelés folyik—, a mézet nem pörgetik ki, ezért a méhek megrajzanának. Ezért az anyákat lecserélik, minden család fiatalabb anyát kap, ezzel mesterségesen létrehozva egy már megrajzott állapotot.

A méhészeti szezonban első alkalommal a repcevirágzás után veszik el a méhektől a mézet, ezt kipörgetik, mivel a repceméz nem alkalmas lépesmézként történő értékesítésre a rendkívül gyors kristályosodása miatt. Következő alkalommal a főleg akácméz és a napraforgóméz keverékéből álló lépesmézet veszik el. Amit a lépesmész elvétele után gyűjtenek még a méhek, azt meghagyják nekik téli eleségnek. A betelelés akkor kezdődik meg, mikor a kinti átlaghőmérséklet 14°C alá süllyed. Az utóbbi években a túl enyhe telek miatt azonban ebben az évszakban is látni repdeső méheket, és ez gyengítheti a kolóniákat (elfáradnak a munkában, virágpor ilyenkor alig van).

Külső paraziták (*Varroa destructor* atka) elleni védekezésként a tavaszi fiasmentes időszakban (április végétől) amitrázos füstölést végeznek minden kaptárban, kivéve a biomézet előállító méhcsaládok kaptáraiban; ott oxálsavas locsolással kezdődik a parazitaellenes védekezés. Június elejétől pedig az atkák ellen a kaptárakban oxálsavval és glicerinnel átitatott sörálatét papír csíkot (ez szívja fel jól a hatóanyagot) helyeznek el, amit a méhek megrágcsálnak, és a hatóanyagot széthordják a kaptárban a lábukon. Ez a módszer 6 hétig hatékony, ezért a betelelésig kétszer részesülnek ilyen kezelésben a méhek. A kezelés hatékonyságát véletlenszerűen kiválasztott kaptárakban, higiénikus aljdeszka behelyezésével ellenőrzik. 2018-ban a betelelés előtt, október végén atkaellenes kezelésként kísérleti jelleggel oxálsavat szublimáltattak a kaptárakban. A vizsgálataim két éve alatt nem volt detektálható atkafertőzöttség egyik telephelyen sem.

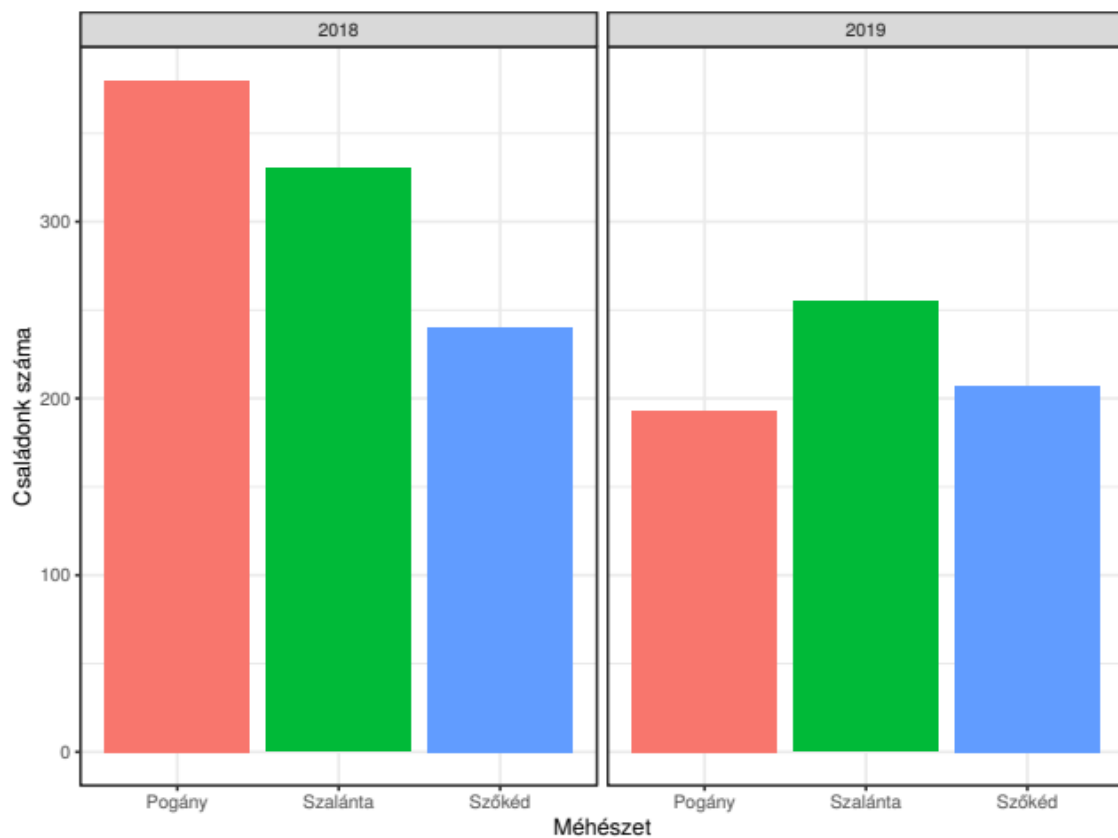
Megjegyzendő, hogy nem csak telephelyek között, de adott telepen belül a repcére és az akácra rajzott családok erőssége, mérete, és a munkásméhek aktivitása között is jelentős különbségek láthatók; a méhészek azt valószínűsítik, hogy ennek hátterében a repcén használt neonicotinoid rovarirtó szerek állhatnak. (A méhmérgezés tünetei: a tömeges pusztulás, az „összegörnyedt” méhek, és a nyújtott szipóka.) Az előző években, a repce virágzása idején tapasztalt nagymértékű méhpusztulás miatt 2019-ben újabb technológiát vezettek be, kísérleti jelleggel. Ennek a lényege, hogy még a repcevirágzás előtt (április elején) a törzsállományt (azokat a méheket, amelyek az előző évben beteleltek) elszállítják a méhlegelő közeléből, és a Mecsekben „szállásolják el őket” ideiglenesen, olyan helyen, ahol 5 km-es körzetben nincs repceföld. Minden állandó telephely el van látva napelemlől működő, rögzített biztonsági kamerákkal, a Mecsekben akkumulátorról működő, fára szerelt mobilkamerákkal biztosították a kaptárak megfigyelését. Április 20-25. körül rajzásgátlás céljából az áttelepített családok anyáit anyazárkába (ráccsal lezárt kalitkába) helyezték, és a méhek által készített anyabölcseket is kivették a kaptárakból. A repce elvirágzása után minden kaptarat visszatelepítettek az eredeti helyükre. Azt remélték, hogy

rajzás hiányában a családok nem gyengülnek le a repcén, és elég erősek maradnak az akácvirágzás idejére. Repceméz ugyan így nem lett, ami veszteség, de a drágább akácmézből keletkező nagyobb mennyiség ezt kompenzálta volna. Ennek ellenére az történt, hogy az anya az anyazárkából való kiengedése után ahelyett, hogy gyorsan elkezdett volna petézni, ismeretlen okból az anyák 30-40%-a eltűnt, így ezek a méhcsaládok „anyátlanná” váltak. Tovább súlyosbította a problémát, hogy az esős időjárás miatt a párzás is „csúszott” egy hetet, így a pároztató telepről származó anyákkal sem tudták pótolni az elpusztultakat. Ebből az következik, hogy az anyátlan családok álnyáássá váltak volna, ami azt jelenti, hogy a méhcsalád elkezdi egy-két munkásméh fiasítást méhpempővel etetni. Így ezek a munkásméhek képesek lesznek petéket rakni, amik azonban megtermékenyíthetetlenek, így csak herék kelnek ki belőlük. Ezt megelőzendő, az anyátlan családok más kaptárakból kaptak fias keretet. E megelőző intézkedések ellenére az anyátlan családok kb. 5%-a így is álnyás lett, így ezeket a családokat meg kellett semmisíteni.

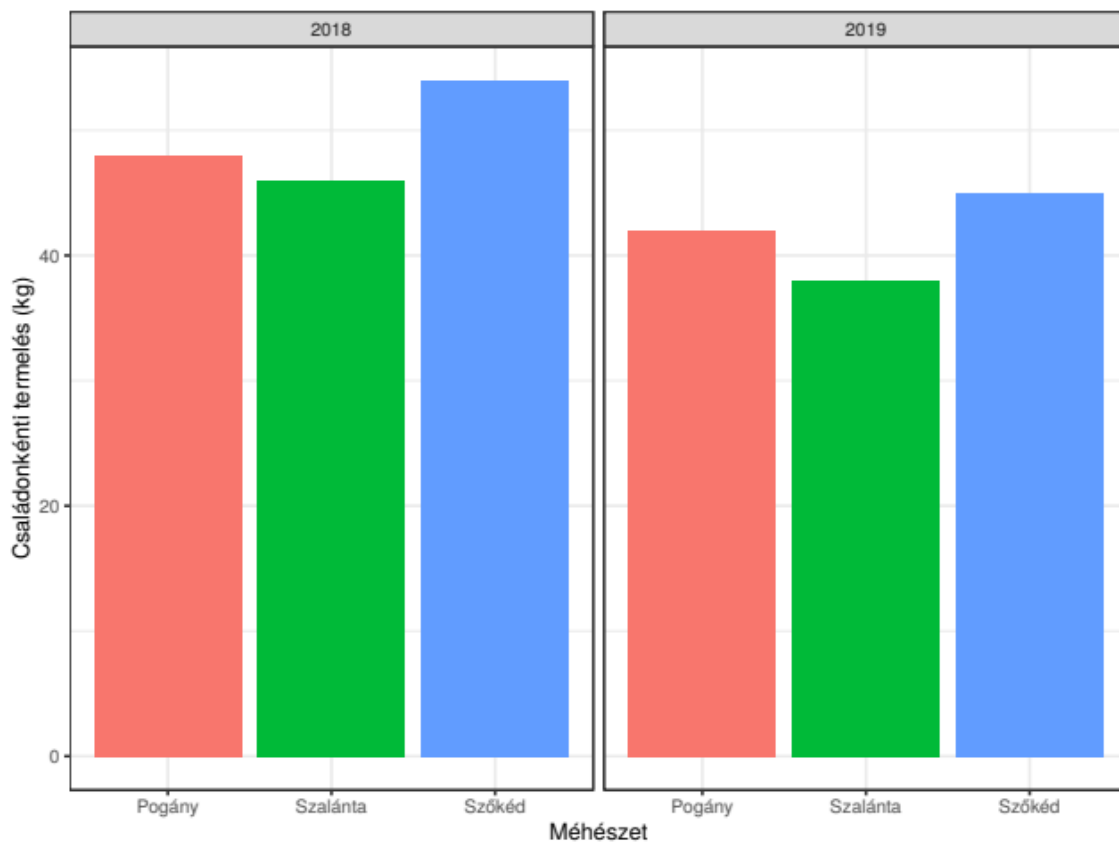
2019-ben a parazitaellenes kezelésekben nem történt változás.

A vizsgált méhcsaládok közül a Szalánta 1, Szalánta 2, Pogány 1, és Szőkéd 2 családok váltak anyátlanná, és kaptak új anyát. Így a Pogány 1 család, amely az erősebb volt az ott vizsgált méhcsaládok közül, gyengébbé vált, mint a Pogány 2.

A repce elvirágzása után, azaz május 10. környékén a méheket visszatelepítették az eredeti helyükre. Azonban a családok nem voltak olyan erősek, mint szeretnék volna (az idiopátiás anya-eltűnés miatt), és az időjárás is kedvezőtlenül alakult az akácvirágzás idején (esett az eső), így akácméz is kevés lett. Tehát a technológia elméletben jó volt, de a kedvezőtlen külső tényezők miatt 2019 mégsem lett jobb év termelés szempontjából, mint az előzőek, sőt – az időjárás miatt is – sokkal rosszabbnak bizonyult.



2. ábra. A méhcsaládok száma 2018-ban és 2019-ben.



1. ábra. A méhcsaládonkénti átlagos termelés 2018-ban és 2019-ben.

A Fulmer Kft. több évre visszamenőleg rendelkezik adatokkal arról, hogy az adott telepről mennyi lépesmézet lehetett kinyerni. Ez alapján a leggyengébb teljesítményűnek a szalántai telephely méhei bizonyultak, átlagos termelők a szőkédi méhek, a legerősebbek pedig a pogányiak. Azonban adott telepen belül is mutatnak különbséget az egyes méhcsaládok, így minden telephelyről kiválasztottam egy jobban és egy rosszabbul teljesítőt, és mindegyikből 60-60 méhet küldtem be a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal Állat-egészségügyi Diagnosztikai Igazgatóságába (NÉBiH-ÁDI) nosema- és vírusvizsgálatra. A véletlenszerűen kiválasztott méhcsaládok azonosításához a „helységnevé+sorszám” jelölést alkalmaztam, így a Pogány 1, Pogány 2, Szalánta 1, Szalánta 2, Szőkéd 1, és Szőkéd 2 elnevezéseket kapták. Az 1-es számmal jelölt kaptárak minden esetben az erősebb családot jelzik.

A méheket a kaptárakról fóliára rázva, majd onnan üvegbe öntve gyűjtöttem. A nosema-fertőzöttség a méhek béltartalmának fénymikroszkópos vizsgálatával került megállapításra, az RNS vírusok kimutatása pedig polimeráz láncreakcióval (PCR) történt. A Nébih-ÁDI által megbízott laboratóriumban (Szol-Víz-Ker Bt.) öt vírus kimutatását tudják elvégezni, ezek a következők: heveny méhbénulás vírus (Acute Bee Paralysis Virus, ABPV), fekete anyabölcső vírus (Black Queen Cell Virus, BQCV), krónikus méhbénulás vírus (Chronic Bee Paralysis Virus, CBPV), deformált szárny vírus (Deformed Wing Virus, DWV), költéstömlősödés vírus (Sacbrood Virus, SBV).

Az Állatorvostudományi Egyetem Bioinformatikai Központjából Solymosi Norbert volt segítségemre a méhek bélcsatornájának genomvizsgálatában. Egy akkoriban az ő neve alatt futó projektben sertések bélcsatornájából vett mintákat szekvenáltak meg, és derítették ki indirekt módon, hogy milyen mikroorganizmusok találhatóak meg ott (Krikó *et al.*, 2018). Ebbe a projektbe kapcsolódhattam be. Mivel az egyes telephelyek méheit potenciálisan nem ugyanazok a hatások érik, így a metagenomikai vizsgálat a különböző helyek méheinek összehasonlítására nem alkalmas. A pogányi telephely méheinek vizsgálatát választottam, mert ugyan az ottani méhek teljesítménye bizonyult a legjobbnak, azonban telepen belül itt volt a legnagyobb különbség a repcére és az akácra kirepült családok között. Véletlenszerűen kiválasztottam két jobban, és két rosszabbul termelő méhcsaládot (jelölésük: E1, E2, GY1, GY2, ahol E=erős, GY=gyengébb méhcsalád). Mindegyik családból 30-30 dolgozót a nosema- és vírusvizsgálathoz hasonló módszerrel műanyag, zárható tetejű poharakba gyűjtöttünk, és szárazjégre tettük őket. Mikor már nem mozogtak, kivettük őket, majd potrohukat levágva egy csipesszel kihúztuk a bélcsatornájukat, és alkoholba tettük. Ezeket a mintákat vittük Mórahalomra, a SeqOmics Kft. laboratóriumába

metagenomikai vizsgálatra. Az újgenerációs szekvenálással a méhészetenként poolozott bélmintákból az alábbi számú readet kaptuk: E1: 612 846; E2: 565 692; GY1: 654 928; GY2: 664 562. A nyers readek minőségellenőrzését elvégezve, a nem kielégítő minőségű readeket kiszűrtük és a readek kevésbé megbízható szakaszait levágtuk. Az így megtisztított FASTQ-fájlokat „very-sensitive” beállítással Bowtie2 szoftverrel illesztettük az *Apis mellifera* referenciagenomjára, az így nem illeszkedő readeket használtuk a továbbiakban a mikrobiom elemzésekben. A readek redundanciájától a VSEARCH programmal tisztítottuk meg az adatállományokat. A readek taxonokhoz való rendelését, klasszifikációját a Kraken2 szoftverrel, és az NCBI nt adatbázisával végeztük. A klasszifikáció eredményeként kapott operational taxonomic unit (OTU) mátrixot a továbbiakban R-környezetben és a phyloseq csomag felhasználásával elemeztük. A bakteriom vizsgálatához azokat a taxonokat használtuk csak, amelyek *Kingdom*-jának értéke *Bacteria* lett a klasszifikáció során. Így az egyes mintákban a következő readszámok maradtak: E1: 35 312; E2: 23 373; GY1: 22 926; GY2: 25 546. A minták genusonkénti és fajonkénti abundancia részarányai szerinti távolságok vizsgálatához a readek mintánként eltérő számát kiegyenlítettük. Ezt a rarefied OTU-mátrixot használtuk a Bray-Curtis távolság-metrika számításához, ami alapján Non-metric Multidimensional Scaling-et (NMDS) használtunk a dimenzióredukcióhoz.

Alkalmazott vizsgálati módszereim között szerepel továbbá az időjárás megfigyelése; ehhez meteorológiai állomásokat telepítettem le a vizsgált telephelyekre. A Voltcraft márkájú készülékek harminc percenként mérték a hőmérsékletet, a levegő páratartalmát, és a harmatpontot, majd ezt el is tárolták. Az adatokat egy számítógépre telepített szoftver (Votsoft Client) segítségével tudtam kinyerni.

A kimutatott vírusokról, baktériumokról, és a nosémosisról szóló tudományos cikkeket a Google Scholar, valamint könyvtári adatbázisok használatával találtam meg.

5. Eredmények

Az alábbi fejezetben az elvégzett vizsgálatok eredményeit ismertetem: először az időjárás-figyelő állomások méréseit, majd a nosema- és vírusvizsgálat, végül egy kiválasztott, kisebb mintán végzett méh-metagenomikai kutatás eredményeit fejtem ki bővebben.

5.1 Időjárás-figyelővel végzett vizsgálatok

Minden telephelyen elhelyeztem egy-egy Voltcraft márkájú meteorológiai állomást, amely félóránként mérte a hőmérsékletet, a levegő relatív páratartalmát, és a harmatpontot. Konkrét termelési adat (a vizsgált családoktól elvett lépesméz tömege minden elvételkor) sajnos nem állt rendelkezésre, csak az adott méhészeti szezonban az adott telephelyről kinyert átlagos lépesméz-tömeg, így messzemenő statisztikai következtetéseket nem lehet levonni a meteorológiai állomás segítségével gyűjtött adatokból.

1. táblázat. Légköri paraméterek leíró statisztikái a teljes mérési időszakban.

| Méhészet | Hőmérséklet (°C) | | RH (%) | | Harmatpont (°C) | |
|----------|------------------|--------|--------|--------|-----------------|--------|
| | átlag | szórás | átlag | szórás | átlag | szórás |
| Pogány | 11,62 | 9,08 | 80,70 | 20,39 | 7,69 | 7,86 |
| Szalánta | 12,27 | 8,84 | 76,56 | 20,16 | 7,55 | 7,61 |
| Szökéd | 11,64 | 8,88 | 78,22 | 18,86 | 7,37 | 7,62 |

2. táblázat. Légköri paraméterek leíró statisztikái a 2018. április és 2018. szeptember, illetve a 2019. április és 2019. június közötti időszakban.

| Méhészet | Hőmérséklet (°C) | | RH (%) | | Harmatpont (°C) | |
|----------|------------------|--------|--------|--------|-----------------|--------|
| | átlag | szórás | átlag | szórás | átlag | szórás |
| Pogány | 17,36 | 6,56 | 81,86 | 19,27 | 13,63 | 5,56 |
| Szalánta | 18,14 | 6,45 | 75,93 | 19,75 | 13,15 | 5,53 |
| Szökéd | 17,68 | 6,48 | 77,29 | 18,82 | 13,07 | 5,47 |

3. táblázat. Légköri paraméterek leíró statisztikái évenként.

| Év | Méhészet | Hőmérséklet (°C) | | RH (%) | | Harmatpont (°C) | |
|------|----------|------------------|--------|--------|--------|-----------------|--------|
| | | átlag | szórás | átlag | szórás | átlag | szórás |
| 2018 | Pogány | 13,60 | 9,35 | 82,59 | 18,37 | 10,12 | 7,62 |
| | Szalánta | 14,24 | 8,89 | 78,92 | 16,88 | 10,14 | 7,18 |
| | Szökéd | 13,76 | 9,16 | 79,81 | 17,15 | 9,82 | 7,38 |
| 2019 | Pogány | 9,49 | 8,27 | 78,69 | 22,18 | 5,10 | 7,27 |
| | Szalánta | 10,17 | 8,28 | 74,03 | 22,90 | 4,78 | 7,06 |
| | Szökéd | 9,37 | 7,97 | 76,52 | 20,39 | 4,76 | 6,98 |

5.2. Nosema vizsgálat

5.2.1. A *Nosema apis* és a *Nosema ceranae*, a betegség terjedése, tünetei, leküzdése, és megelőzése

A nosemosis egy parazitózis, kórokozója a *Nosema apis* és a *Nosema ceranae* egysejtű gombák. Régebben úgy hitték, a *N. apis* a mézelő méhek egyetlen kórokozója, azonban kiderült, hogy a 2006-ban az ázsiai mézelő méhben leírt *N. ceranae* már régóta jelen van Európában is, és Magyarországon is ez utóbbi a fő kórokozója a nosemosisnak (Tapaszi *et al.*, 2009). A két faj közül a *N. ceranae* virulensebb, az általa okozott fertőzés egész évben fennmaradhat, és ez a kórokozó kiszoríthatja a gyengébb virulenciával rendelkező *N. apist*, amely által okozott fertőzöttség enyhébb, a nyár folyamán spontán megszűnhet. Ezek az egysejtű paraziták szájon át fertőzik a kifejlett méheket; azok a tisztogató munka során nyelik le a spórákat. A lenyelt spórák a méhek közepbelében felnyílnak, a csírák a bélhámsejtekbe jutnak és ott szaporodnak, a méh saját testanyagait felhasználva. Ennek következtében csökken a tartalék tápanyagok mennyisége, valamint romlik a bélbeli felszívódás. A spórák a leváló hámsejtekben, a béltartalommal ürülnek, és akár egy évig is fertőzőképesek maradhatnak. A nosema spórák előfordulhatnak a tünetmentes méhcsaládokban is, azonban néha nagy károkat is képesek okozni; a nosemosis tünetei a hasmenés, a méhek csoportba verődése, remegése, ritkán mászkálás, röpképtelenség, és elhullás. Enyhe-közepes (+, ++) nosema-fertőzöttség és tünetmentesség esetén a kezelés nem feltétlenül szükséges, azonban súlyos (+++) fertőzöttség és a tünetek jelentkezése esetén a család összeomlásának elkerülése végett gyógyszeres kezelés és az érintett méhcsaládok lánggal fertőtlenített kaptárakba való áthelyezése javasolt. A nosemosis ellen Magyarországon használt gyógyhatású készítmények hatóanyagai a szalicilsav, benzoosav, hangyasav, jód, és a csersav. A *Nosema apis* és a *Nosema ceranae* spórák megkülönböztetése drága módszerekkel lehetséges (PCR), viszont mivel a felsorolt hatóanyagok mindkét faj spórái ellen hatékonyak, a megkülönböztetés nem is szükséges.

A megelőzés szempontjából nagyon fontos a méhek kielégítő fehérje-ellátottsága, tehát a megfelelő hordás és pollen-ellátottság, mivel ekkor a közepbelet borító peritrof membrán egy ellenálló burokként védi a bélfalat a kiszabaduló csíráktól. Ezen túl a méhész is sokat tehet a nosemosis megelőzése érdekében: az előregedett lépek folyamatos cseréje hozzájárul a spóraszám csökkentéséhez, így a visszafertőződés esélye csökkenthető.

5.2.2. A nosema vizsgálat eredményei

A nose mával való fertőzöttség vizsgálata a NÉBiH – ÁDI-ban történt, ahol a beküldött méhek béltartalmának fénymikroszkópos vizsgálatával a következő eredményekre jutottak.

4. táblázat. A 2018. nyári nosema vizsgálat eredményei:

| Minta | Nosema fertőzöttség |
|------------|---------------------|
| Szalánta 1 | ++ |
| Szalánta 2 | - |
| Pogány 1 | ++ |
| Pogány 2 | ++ |
| Szökéd 1 | ++ |
| Szökéd 2 | + |

5. táblázat. A 2018. őszi nosema vizsgálat eredményei:

| Minta | Nosema fertőzöttség |
|------------|---------------------|
| Szalánta 1 | - |
| Szalánta 2 | - |
| Pogány 1 | - |
| Pogány 2 | - |
| Szökéd 1 | +++ |
| Szökéd 2 | ++ |

6. táblázat. 2019. tavaszi nosema vizsgálat eredményei:

| Minta | Nosema fertőzöttség |
|------------|---------------------|
| Szalánta 1 | - |
| Szalánta 2 | + |
| Pogány 1 | + |
| Pogány 2 | + |
| Szökéd 1 | + |
| Szökéd 2 | + |

7. táblázat. 2019. nyári nosema vizsgálat eredményei:

| Minta | Nosema fertőzöttség |
|------------|---------------------|
| Szalánta 1 | +++ |
| Szalánta 2 | +++ |
| Pogány 1 | +++ |
| Pogány 2 | +++ |
| Szökéd 1 | ++ |
| Szökéd 2 | + |

5.3. RNS vírusok vizsgálata

A tizennyolc ismert, méheket fertőző vírus közül tizenhétnek pozitív szálú RNS az örökítőanyaga; ezeket korábban a Picornaviridae, újabban a Dicistroviridae és Iflaviridae családokba sorolják, és morfológiailag nagymértékben hasonlóak (Tantillo *et al.*, 2015). Jelenlétüket PCR vizsgálattal lehet igazolni vagy kizárni. A Magyarországon előforduló öt leggyakoribb RNS méhvírus kimutatására irányuló vizsgálatot a Nébih-ÁDI által megbízott laboratóriumban (Szol-Víz-Ker Bt.) végezték, és a következő eredményeket kapták.

8. táblázat. 2018. nyári vírusvizsgálat eredménye:

| minta | ABPV | BQCV | CBPV | DWV | SBV |
|------------|---------|----------------|---------|---------|----------------|
| Szalánta 1 | negatív | pozitív | negatív | negatív | pozitív |
| Szalánta 2 | negatív | pozitív | negatív | negatív | pozitív |
| Pogány 1 | negatív | pozitív | negatív | negatív | pozitív |
| Pogány 2 | negatív | pozitív | negatív | negatív | pozitív |
| Szökéd 1 | negatív | pozitív | negatív | negatív | pozitív |
| Szökéd 2 | negatív | negatív | negatív | negatív | pozitív |

9. táblázat. 2019. tavaszi vírusvizsgálat eredménye:

| minta | ABPV | BQCV | CBPV | DWV | SBV |
|------------|---------|---------|---------|---------|----------------|
| Szalánta 1 | negatív | negatív | negatív | negatív | negatív |
| Szalánta 2 | negatív | negatív | negatív | negatív | negatív |
| Pogány 1 | negatív | negatív | negatív | negatív | negatív |
| Pogány 2 | negatív | negatív | negatív | negatív | pozitív |
| Szökéd 1 | negatív | negatív | negatív | negatív | pozitív |
| Szökéd 2 | negatív | negatív | negatív | negatív | negatív |

10. táblázat. 2019. nyári vírusvizsgálat eredménye:

| minta | ABPV | BQCV | CBPV | DWV | SBV |
|------------|----------------|----------------|---------|----------------|----------------|
| Szalánta 1 | negatív | negatív | negatív | negatív | negatív |
| Szalánta 2 | pozitív | negatív | negatív | negatív | pozitív |
| Pogány 1 | negatív | pozitív | negatív | pozitív | pozitív |
| Pogány 2 | negatív | pozitív | negatív | negatív | pozitív |
| Szökéd 1 | negatív | pozitív | negatív | negatív | pozitív |
| Szökéd 2 | negatív | negatív | negatív | negatív | pozitív |

5.3.1. Heveny méhbénulás vírus (Acute Bee Paralysis Virus, ABPV)

Magyarországon az elsőként azonosított méhvírus, amely *per os* és *per cutan* fertőz, és a kifejlett méhekben okozhat elváltozást. Tünete a kaptár kijáratánál gyülekező, röpképtelen méhek, azonban tünetmentes fertőzöttség is előfordulhat. Vektora a *Varroa destructor*, amely egészséges, kifejlett egyedekre és a fedetlen fiasításra is átviheti a kórokozót (Békési *et al.*, 1999).

5.3.2. Fekete anyabölcső vírus (Black Queen Cell Virus, BQCV)

A lefedett anyaálca betegsége: annak középbelének epithelsejtjeiben szaporodik. Az elpusztult anyaálca fala jellegzetes feketés színű lesz. A munkásméhek és a herefiasítás is fertőződhet, de ekkor tünetek nem jelentkeznek. A nosemosis éves ciklusát követve általában tavasszal és nyár elején mutatkozik BQCV-csúcs, így feltételezhető, hogy a nosema fertőzöttséggel is kapcsolatban áll ez a vírus (Békési, 2012). Ezt az én kutatásom is alátámasztja, mivel a legtöbb BQCV-fertőzöttség 2018 és 2019 nyarán fordult elő, amikor a legtöbb vizsgált családban közepes, vagy épp súlyos nosemosis egyaránt detektálható volt.

5.3.3. Krónikus méhbénulás vírus (Chronic Bee Paralysis Virus, CBPV)

Közvetlen és aerogén úton terjedő, *per os* és *per cutan* fertőző, a kifejlett méhekre veszélyes vírus. Tünetmentes családokban is előfordulhat. Nagyarányú fertőződés főleg nyáron, kedvezőtlen időjárási körülmények, és egyéb gyengítő hatások (pl. anyátlanná váló család) révén alakulhat ki (Békési, 2012). Tünetei a fertőzési módtól függnek; szájon át történő fertőződés esetén a heveny méhbénuláshoz hasonló elváltozások tapasztalhatók (szárnyak és test remegése, szétterpesztett szárnyak), míg *per cutan* fertőződés esetén a munkásméhek szörteleonné válnak, testük fényes fekete lesz, így a többi méh nem engedi őket vissza a kaptárba. A két forma egyszerre is megjelenhet, ekkor a fent leírt tüneteken túl nagy, kitágult potroh, telt mézhólyag, és hasmenéses tünetek jellemzik a méheket, amik néhány napon belül elpusztulnak. Hajlamosító tényezőként tartják számon a *Nosema apis*, *Varroa destructor*, *Malpighamoeba mellifica* és *Acarapis woodi* fertőzöttséget.

5.3.4. Deformált szárny vírus (Deformed Wing Virus, DWV)

A fiasítás mellett leggyakrabban a varroa atkákkal erősen fertőzött munkásméhekben fordul elő; tünete, hogy a méhek zsugorodott szárnyal születnek, nem tudják kinyitni a

szárnyaikat, röpképtelenek, és hamvasszürke színűek. Terjedése történhet vertikálisan, a herék spermájával, és horizontálisan is, varroa vektorral (Békési, 2012).

5.3.5. Költéstömlősödés vírus (Sacbrood Virus, SBV)

A tisztogató méhek garatmirigyében áttelelni képes vírusra a kétnapos lárvák a leginkább érzékenyek: a fiasítás lefedése után pár napon belül elpusztulnak. A vírus a bábozódás zavarát okozza: a kutikulát károsítja, így azt az a lárvák nem tudják levedleni, és víztiszta folyadék halmozódik fel a régi és új kutikula között. Az enyhe fertőzöttség tünetmentes maradhat, mivel a takarító feladatokat végző munkásméhek, ha beteg álcát találnak, a fiasítást felnyitják, és a rendellenes álcát kidobják a kaptárból. A költéstömlősödés vírusa végső soron szórt fiasítást okoz (Békési, 2012).

5.3.6. Kezelés, megelőzés

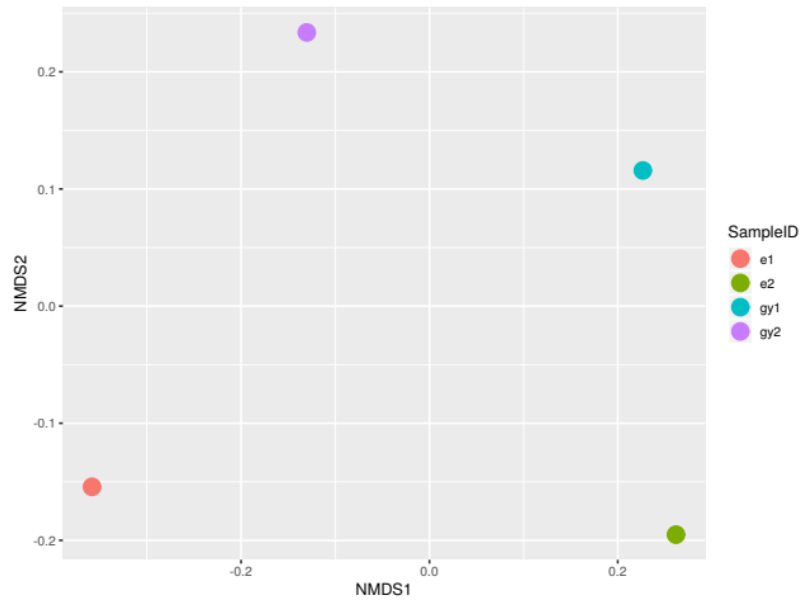
A méhek vírushordozóinak specifikus kezelésére jelenleg nem állnak rendelkezésre gyógyszerek, így a hangsúlyt a megelőzésre kell fektetni. Az olyan vírusok esetében, ahol a nosemosis (BQCV vírus) vagy a *Varroa destructor* (ABPV, CBPV, DWV vírusok) vektorként szerepelnek, az ezek elleni kezelés javulást hozhat. Fontos megelőző intézkedések a rendszeres lépcsere, és a zsúfoltság csökkentése (Békési, 2012).

5.4. A méhek bélcsatornájának metagenomikai vizsgálata

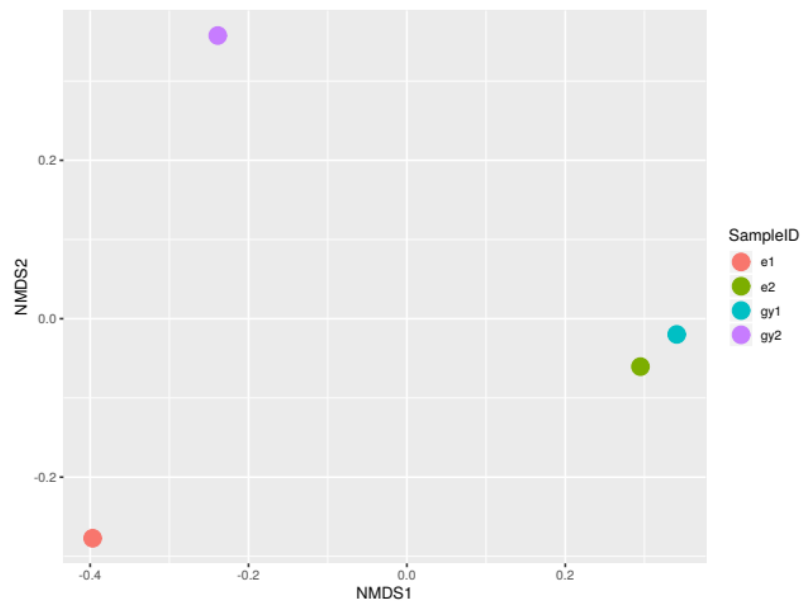
A méh-metagenom vizsgálatot a pogányi telephely méhein végeztem. Ezen a telephelyen számottevő különbség volt megfigyelhető a legerősebb és a leggyengébb családok között. A szélsőséges jelenség feltérképezése végett két erős és két gyenge család került kiválasztásra, amelyek bélcsatornáját további vizsgálatoknak vettem alá.

A metagenomikai vizsgálattal a méhek bélcsatornájában található vírusok, baktériumok és eukarióta sejtek DNS-t tartalmazó genetikai anyagai kerültek elválasztásra és meghatározásra. A legnagyobb különbség az erősebb és gyengébb családok közt a következő baktériumok relatív abundanciájában adódott: *Lactobacillus kunkeei* (GY családokban volt több), *Bifidobacterium coryneforme* (GY családokban volt több). A legtöbb baktérium esetében azonban nem lehetett azt megállapítani, hogy csak a GY vagy csak az E csoportokban fordul elő; a legnagyobb eltéréseket Csányi Antal szubjektív megítélése szerint is a telepen található közül az egyik legerősebb család, az E1 produkálta; ennek a kaptárnak a méheiben ugyanis kimutatható volt az *Apis mellifera*

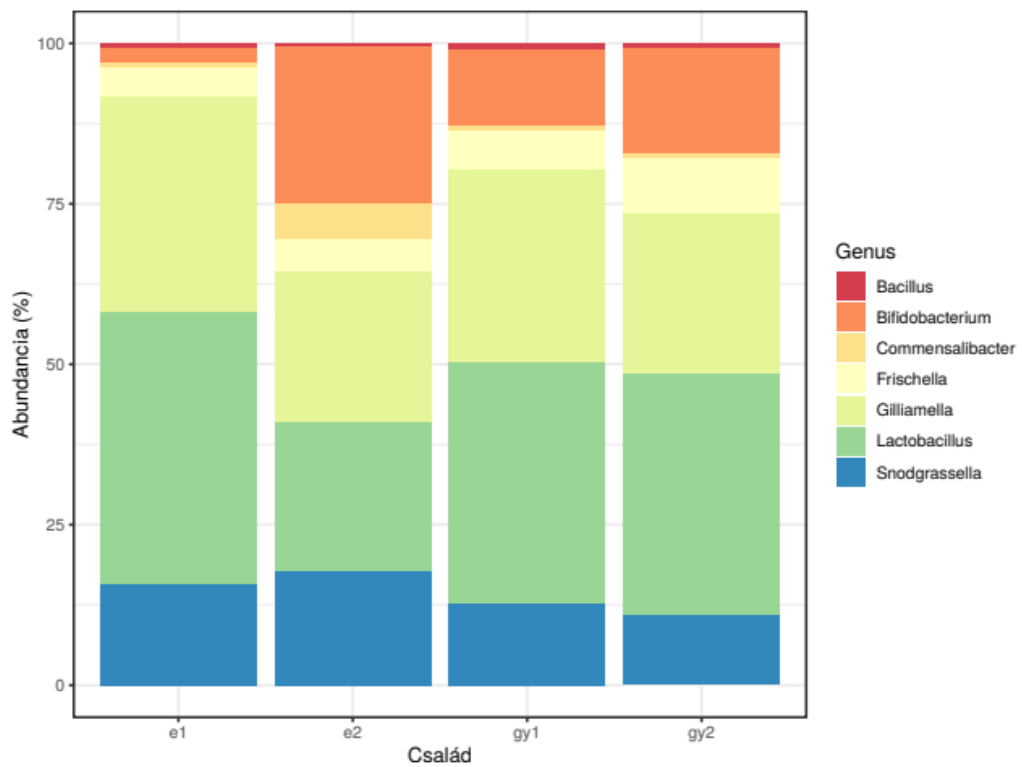
filamentous virus, ami egyetlen másik családban sem volt jelen. Továbbá *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, és *Lactobacillus bombicola* is csak az E1-ben volt megtalálható. Akadtak olyan baktériumok is, amelyek viszont csak az E1-ben nem voltak jelen, ugyanakkor minden többi családban megtalálhatók voltak; ezek a következők: *Anaplasma phagocytophilum*, *Bartonella apis*, *Clostridium* és *Gilliamella* fajok. Magyarországon ez volt az első metagenomikai vizsgálat, amelyet méhek bélcsatornáján végeztek, így messzemenő következtetéseket egyelőre nem lehet levonni a kapott eredményekből. A 2. és 3. ábrákon látható a minták NMDS alapú, kétdimenziós térben mutatkozó távolsága. Az egyes taxonok E és GY csoportbeli abundanciakülönbségének vizsgálatához a taxonokat genus, illetve faj szinten összesítettük és csak azokat vontuk be az elemzésekbe, amelyek a minták legalább felében legalább 100 readtalálalatot mutattak. Az így kapott OTU-mátrixok alapján számított relatív abundanciák láthatók az 5. és 6. ábrákon. A csoportok összehasonlítása céljából a \log_2 fold change és p-érték becslésére negatív binomiális modellt használtunk a 6 DESeq2-csomag függvényeinek alkalmazásával. Az eredmények összefoglalása olvasható az 11. és 12. táblázatban.



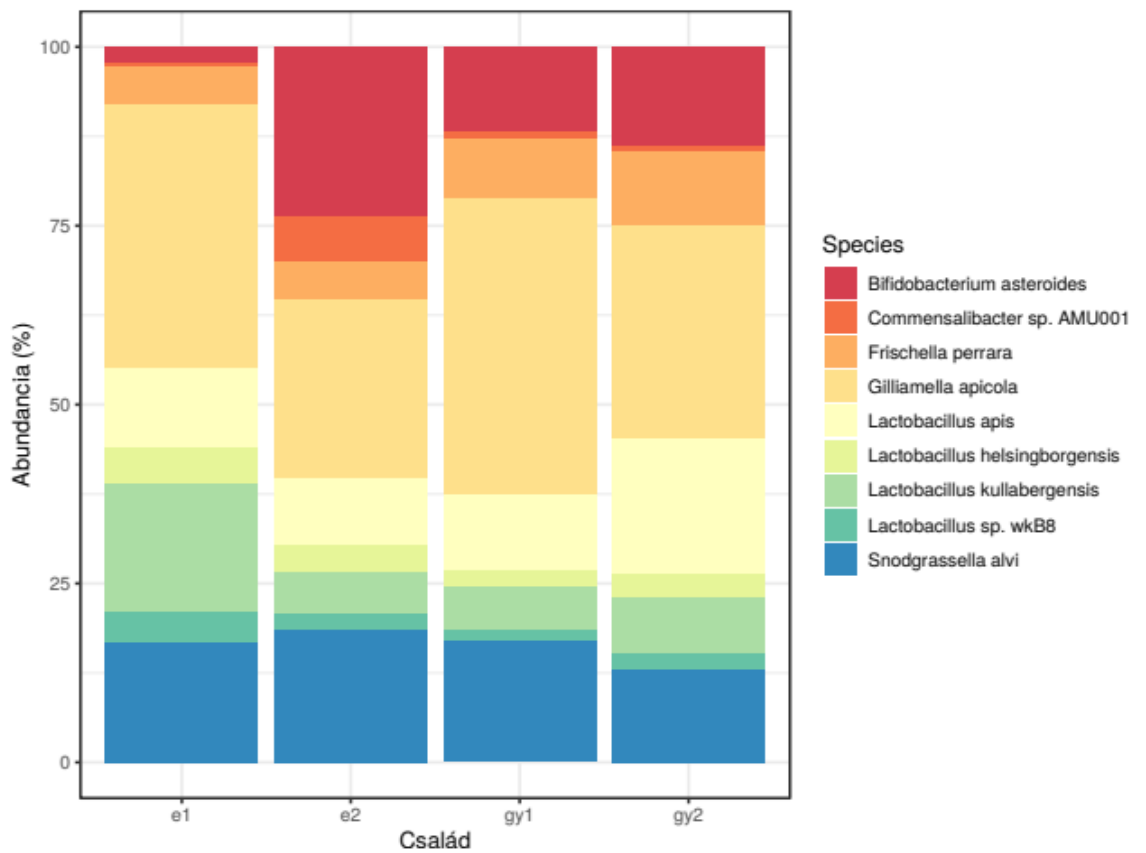
4. ábra. A minták genus szintű abundanciái alapján a Non-Metric Multidimensional Scaling módszerrel számított távolsága



3. ábra. A minták fajszintű abundanciái alapján a Non-Metric Multidimensional Scaling módszerrel számított távolsága.



5. ábra. Nemzetség szintű abundanciák az egyes mintákban.



6. ábra. Fajszintű abundanciák az egyes mintákban.

11. táblázat. A genusok csoportonkénti abundanciájának átlaga, és a negatív binomiális modellből kapott log₂FC- és p-értékek.

| Genus | Relatív abundancia (%) | | FC | | p-érték | |
|------------------|------------------------|------------|------------------|------|---------|-----------|
| | GY családok | E családok | log ₂ | SE | nyers | korrigált |
| Commensalibacter | 0,6295 | 3,1700 | -2,57 | 1,40 | 0,0660 | 0,2310 |
| Snodgrassella | 11,8989 | 16,8052 | -0,67 | 0,17 | 0,0001 | 0,0007 |
| Frischella | 7,3739 | 4,8754 | 0,46 | 4,56 | 0,9197 | 0,9389 |
| Bacillus | 0,6839 | 0,4539 | 0,42 | 0,30 | 0,1695 | 0,3954 |
| Gilliamella | 27,3744 | 28,4004 | -0,20 | 0,17 | 0,2285 | 0,3999 |
| Bifidobacterium | 14,3233 | 13,4027 | -0,11 | 1,42 | 0,9389 | 0,9389 |
| Lactobacillus | 37,7160 | 32,8924 | 0,07 | 0,37 | 0,8562 | 0,9389 |

12. táblázat. A fajok csoportonkénti abundanciájának átlaga, és a negatív binomiális modellből kapott log₂FC- és p-értékek.

| Faj | Relatív abundancia (%) | | FC | | p-érték | |
|--------------------------------|------------------------|------------|------------------|------|---------|-----------|
| | GY családok | E családok | log ₂ | SE | nyers | korrigált |
| Commensalibacter sp. AMU001 | 0,824 | 3,3897 | -2,00 | 1,27 | 0,1151 | 0,4490 |
| Frischella perrara | 9,3930 | 5,2819 | 0,94 | 0,38 | 0,0130 | 0,1167 |
| Lactobacillus kullabergensis | 6,9587 | 12,0417 | -0,64 | 0,69 | 0,3539 | 0,5308 |
| Lactobacillus apis | 14,7389 | 10,2904 | 0,63 | 0,49 | 0,1995 | 0,4490 |
| Lactobacillus sp. wKB8 | 1,9051 | 3,1178 | -0,58 | 0,58 | 0,3185 | 0,5308 |
| Lactobacillus helsingborgensis | 2,7536 | 4,3744 | -0,55 | 0,43 | 0,1994 | 0,4490 |
| Gilliamella apicola | 35,6037 | 30,8650 | 0,34 | 0,44 | 0,4393 | 0,5648 |
| Snodgrassella alvi | 15,0621 | 17,7654 | -0,13 | 0,43 | 0,7666 | 0,8624 |
| Bifidobacterium asteroides | 12,7609 | 12,8737 | 0,01 | 1,19 | 0,9907 | 0,9907 |

Megjegyzendő, hogy a p-értékek figyelembe vétele a kis mintaszám miatt nem indokolt.

A méhek bélcsatornájában az arra jellemző mikrobiom egy része már a posztembrionális fejlődés során is megtalálható. Korábbi kutatásokkal ellentétben Hroncova *et al.* (2015) vizsgálata arra a következtetésre jutott, hogy a lárvák bélrendszere nem steril, hanem 10^8 nagyságrendben tartalmaz mikroorganizmusokat, melyek főként a *Firmicutes* törzsbe tartoznak. A bebábozódás után hat nappal a *Firmicutes* és a *Gammaproteobacteriumok* száma csökkenni kezd, és a méh életkorának előrehaladtával ez a tendencia folytatódik.

A béltraktus baktériumokkal való kolonizációja 6-10 nap alatt végbemegy; ez történhet fekál-orál transzmisszió, trophallaxis, és a kaptár anyagaival való érintkezés útján is. Szociális interakciók, mint például az anyai gondoskodás, táplálékmegosztás, tisztálkodás is elősegítik a bélcsatornában előforduló baktériumok átvitelét a gazdafaj egyedei között, így kialakítva egy állandó, jellemző bélflórát, ami a gazdafajjal koevolúcióban áll. E folyamat során lejátszódik a szimbionta törzsek pozitív, és a nem méhbél-specifikus mikroorganizmusok negatív szelekciója is (Engel & Moran, 2013). A mézelő méhek (*Apis mellifera*) bélcsatornájában földrajzi elhelyezkedéstől függetlenül majdhogynem ugyanazok a baktériumok találhatók meg; a legnagyobb számban előforduló baktériumok a *Gilliamella apicola*; egy *Gammaproteobacterium*, a *Gamma-2*; a *Snodgrassella alvi*; két *Firmicutes* faj; egy *Bifidobacterium*; két *Alphaproteobacterium*; és egy *Bacteroidetes* faj (Engel & Moran, 2013).

Az mézelő méhekben (*Apis*) és a dongókban (*Bombus*) fellelhető baktériumfajok többsége sem a környezetben, sem a magányos méhekben (solitary bees) nincsenek jelen, ami mélyen gyökerező kapcsolatot feltételez a gazda- és a baktériumfajok között. Eltérések a baktériumok arányában adódhatnak. Ez következhet a méhlegelők változatossága, az eltérő táplálékból, életkorból kifolyólag, de befolyásolhatja az is, hogy az adott méhek kaptáron belül vagy kívül látnak el feladatokat, valamint a méhanyák esetleges cseréje is.

A méheknek fejlett szociális berendezkedésük van: az adott csoportok (anya, herék, dolgozók) életkorukkal változó feladatokat látnak el, így pedig idővel más és más környezettel érintkeznek, ami szintén hozzájárulhat a bélflóra összetételének eltéréseihez. A munkáméhek életkoruktól, így feladataiktól függően különböző összetételű és beltartalmú táplálékot fogyasztanak; 4-12 napos koruk között a sejteket tisztítják, a fiatal álcákat és bábokat gondozzák, lépet építenek, és pollenben gazdag táplálékot fogyasztanak. 15-30 napos korukban a dolgozók kirepülnek, pollent és nektárt gyűjtenek, táplálékuk azonban már nem tartalmaz pollent, valamint kevés tápanyagot raktároznak és alacsony a bélflórájuk proteolitikus aktivitása. A táplálkozásbeli különbség szintén hozzájárulhat az eltérő bélflóra-összetételhez. Jones *et al.* (2018) a kutatásaik során azt

találták, hogy a méhek bélcsatornájában található baktériumok összetételében a PERMANOVA statisztikai módszerrel szignifikáns különbség volt kimutatható attól függően, hogy kaptárbeli, vagy kaptáron kívüli feladatokat láttak el; ugyanakkor más statisztikai módszerekkel (pl. ANOVA, UniFrac) ez az eltérés nem volt szignifikáns.

Gyakori eljárás a méhészetben a méhanyák cserélése, így a már meglévő családokban az új anya bekerülésével lehetőség nyílik a családok közötti baktérium-cserére. Ez utóbbira lehetőség nyílik akkor is, mikor a munkáméhek egy másik méhcsaládtól mézet vagy virágport rabolnak (Engel & Moran, 2013).

13. táblázat. A mézelő méhek bélcsatornájában megtalálható, a normál bélflórát felépítő baktériumok és fő előfordulási helyük.

| | |
|------------------------------|----------------------------------|
| <i>Lactobacillus kunkeei</i> | virágpör, lép, lárvák, mézgyomor |
| <i>Frischella perrara</i> | ileum |
| <i>Snodgrassella alvi</i> | |
| <i>Gilliamella apicola</i> | |
| <i>Lactobacillusok</i> | rectum |
| <i>Bifidobacteriumok</i> | |

A metagenomikai vizsgálat során a munkáméhek bélcsatornáját vizsgáltuk, csupán egy-két here akadt a kiválasztott méhek között. A vizsgálat során a méhek bélcsatornájában található legfontosabb baktériumokat és vírusokat ismertetem a továbbiakban; ezeknek általános tulajdonságainak bemutatásán túl arra is kitér a dolgozat, hogy az egyes méhek bélcsatornájában milyen mennyiségben voltak fellelhetőek. A talált baktériumok vagy vírusok nem mindegyike fejt ki káros hatást a méhekre (pl. tejsav baktériumok); több talált baktérium esetében pedig nem tesz említést arról a szakirodalom, hogy a méhekre milyen hatást gyakorol a jelenlétük¹.

Apis mellifera filamentous virus (AmFV)

A méheket fertőző vírusok közül az egyetlen, aminek az örökítőanyaga dsDNS; ezen az adaton kívül azonban egyelőre nem sokat lehet tudni biztosan erről a víusról. Magyarországon elsőként Zana *et al.* fedezték fel a vírus jelenlétét 2019-ben. Valószínűleg mind horizontálisan, táplálék útján, mind pedig vertikálisan, anyától származóan terjedhet (Hartmann *et al.*, 2015), de csak a kifejlett méhekben okoz elváltozást (Carreck *et al.*, 2002). Kevés adat áll rendelkezésre arról, hogy milyen hatással van a méhekre ez a vírus.

¹ A Clostridium-fajok esetében nincs nyoma annak a szakirodalomban, hogy bármilyen hatása lenne a méhek szempontjából; azonban az emberi egészségre gyakorolt hatásai ismertek, melyek a vonatkozó alfejezet alatt kerülnek további kifejtésre (oldalszám).

Hartmann *et al.* (2015) szerint az akut fertőzés a méhek szöveteinek lízisét okozza; a haemolymphában található zsírtestek feloldódása miatt az tejfehér színűvé válik. Ezen kívül jellemző még az akut fertőzésre, hogy a méhek a kaptár bejáratánál tobzódnak. A metagenomikai vizsgálatra való mintagyűjtés során mi nem tapasztaltunk hasonlókat. Zana *et al.* (2019) tanulmányában vizsgált minták mindegyike pozitívnak bizonyult AmFV-re, és habár klinikai tünetekben nem manifestálódott a fertőzés, tejszerű haemolympha volt megfigyelhető.

Az is előfordulhat, hogy a vírus csak fakultatívan patogén, és más fertőző betegségek mint hajlamosító tényezők szükségesek a tünetek kialakulásához. Ilyen feltételezett hajlamosító fertőzés lehet a fekete anyabölcső vírus (BQCV), vagy a *Nosema apis* fertőzöttség. Korábban már feltételezték, hogy az AmFV replikációja kapcsolatban áll a BQCV és a *Nosema apis* fertőzöttséggel (Hartmann *et al.*, 2015) Ez a feltételezést bizonyíthatja, hogy az E1 méhcsalád az adott időszakban BQCV vírus vizsgálatára pozitív eredményt adott, míg a nosema fertőzöttség mértéke „súlyos” volt. Ezek alapján viszont abszolút kérdéses, hogy hogyan lehetett mégis az a család az egyik legjobb és legerősebb a szőkédi telephelyen.

Hartmann *et al.* (2015) vizsgálatai alapján nem csak a BQCV lehet az AmFV kolonizációját segítő RNS vírus, hanem a DWV és a SBV is. Az E1 méhcsalád az adott időszakban DWV-re negatív, SBV-ra pozitív volt.

Carrick *et al.* vizsgálatai alapján az AmFV és a *Varroa destructor* jelenléte között nincs összefüggés, a parazitás fertőzöttség nem befolyásolja a vírusos megbetegedést. Az általam kiválasztott méhcsaládokban a vizsgálataim ideje alatt varroa fertőzöttség nem volt jellemző.

Lactobacillus kunkei

A *Lactobacillus kunkei* egy fruktózt fermentáló tejsavbaktérium, amely a mézelő méhekkel szimbiózisban él, és a mézgyomorban található meg (Djukic *et al.*, 2015).

Az innen izolált baktériumfajok közül kilenc tartozik a *Lactobacillus* és négy a *Bifidobacterium* fajokba (Djukic *et al.*, 2015). A *L. kunkei* a domináns tejsavbaktérium a méhekben, az *Apis* és a *Meliponini* (fullánk nélküli méhek) genusba tartozó fajokban egyaránt. Figyelembe véve, hogy a mézelő és a fullánkkal nem rendelkező, *Meliponini* nemzetségbe tartozó méhek legkorábbi közös őse több mint nyolcvanmillió éve élt, és hogy az említett tizenhárom tejsavbaktérium földrajzi elhelyezkedéstől függetlenül minden méhben megtalálható, feltételezhető, hogy a *L. kunkei* által dominált

tejsavbaktérium-flóra egy ősi, *Apis* méhekre jellemző sajátosság, valamint hogy a baktérium- és a gazdafajok közt koevolúció játszódott le (Djukic *et al.*, 2015, Vásquez *et al.*, 2012). A *Lactobacillus kunkeei* előfordulása a munkásméhek életkorának függvényében a következő: nagyobb arányban található meg a már kirepült, kaptáron kívüli feladatokat végző egyedekben, mint a kaptárban dolgozó, álcákat és lárvákat gondozó egyedekben. (Jones *et al.*, 2018)

A mézgyomorra, a mézre, és a méhpempőre jellemző savas, a mikrobák többsége számára kedvezőtlen környezetben is túlél, ezen túlmenően pedig kulcsszerepet játszik a lárvák egészségmegőrzésében, a táplálék tárolásában, és bakteriocin termelése révén pedig a kaptárhigiéniá fenntartásában. A kaptárban tárolt pollenben a baktériumnövekedés a kedvezőtlen környezeti feltételek miatt (alacsony pH, magas ozmotikus nyomás) csak sporadikus, azonban a *L. kunkeei* savtűrő és ozmotoleráns tulajdonságai révén a kaptárban tárolt pollenben nagy arányban megtalálható, különösen a betárolás első 96 órájában; tejsavtermelése pedig szerepet játszik abban, hogy a pollen a tárolás során ne romoljon meg (Anderson *et al.*, 2014).

Erban *et al.* (2017) által Csehországban, negyven év európai költésrothadás-mentes időszak utáni kitörés során végzett vizsgálatok eredményei alapján az európai költésrothadás (*Mellissococcus plutonius*) tüneteit mutató méhcsaládokban szignifikánsan magasabb volt a *Lactobacillus kunkeei*, és a *Gilliamella apicola*, valamint emelkedett a *Bifidobacterium coryneforme*, *Fructobacillus fructosus*, *Frischella perrara* baktériumok száma, összehasonlítva a tüneteket nem mutató, valamint a nem fertőzött kolóniákkal. Figyelembe véve e baktériumok antimikrobás hatásait, feltételezhető, hogy a baktériumok számának emelkedése a fertőzés legyőzését célozza (Erban *et al.*, 2017). Ezt alátámasztja az is, hogy Vásquez *et al.* (2012) kutatási eredményei szerint a mézgyomorban található tejsav-mikrobiom *in vivo* részlegesen, *in vitro* pedig teljesen gátolta a *Mellissococcus plutoniust*, sőt, a *L. kunkeei* és a mézgyomor tizenhárom tejsavbaktériuma együtt mutatta a legjobb gátló tulajdonságokat².

A tejsavbaktériumok jótékony hatását támasztja alá az a kutatási eredmény is, mely szerint a *Lactobacillus* és *Bifidobacterium* törzsekkel etetett, *Nosema ceranae*-val

² Tejsavbaktériumokat a lárvák táplálékához hozzáadva az eredmény az lett, hogy szignifikánsan kevesebb lárva halt meg európai költésrothadás betegségben. A kontrollcsoport (nem fertőzött, hozzáadott tejsavbaktériumot nem tartalmazó, és azt tartalmazó táplálékkal etetett lárvák egyaránt) mortalitása <7%. Ez az eredmény azt mutatja, hogy a tejsavbaktériumok hozzáadása a *M. plutonius*-nak kitett lárvák táplálékához csökkentette az európai költésrothadásban elhullott lárvák számát (Vásquez *et al.*, 2012).

mesterségesen (kísérletileg) fertőzött mézelő méhekben a paraziták száma kisebb volt, mint a baktériumos kezelést nem kapott egyedekben (D'Alvise *et al.*, 2017; Baffoni *et al.*, 2016).

A citált kutatások eredményeinek teljesen ellentmondva, az általunk vizsgált méhcsaládok közül kizárólag a gyengébbekben volt megtalálható a *Lactobacillus kunkeei*. Ebben az időszakban a Szökéd 2=GY1 családban enyhe nosema fertőzöttség volt tapasztalható, valamint a költéstömlősödés vírusára is pozitívnak bizonyult. A költéstömlősödés vírusával való fertőzöttség és a *Lactobacillus kunkeei* jelenléte, mennyisége között kutatásaim során nem találtam a metagenomikai vizsgálatunkkal konzekvens kapcsolatot. Mivel a tejsavbaktériumok tejsavtermelésük révén alapvetőek a kaptárhigiéniában, és az egyed egészségének megőrzésében is, így elméletben az erősebb, fertőzésekkel kevésbé terhelt családokban lehetne számítani arra, hogy nagyobb mennyiségben lesznek megtalálhatók. A következő, 2018. novemberi (betelelés előtti) vírus- és nosema vizsgálat eredménye azt mutatta, hogy a nyári enyhe helyett már közepes volt a nosema fertőzöttség. Tehát még azt a következtetést sem lehet levonni, hogy a megnövekedett *Lactobacillus kunkeei* mennyiség elősegítette volna a fertőzések legyőzését.

Bifidobacterium coryneforme

A *Bifidobacterium coryneforme* Gram pozitív, anaerob, probiotikus, szimbionta baktérium. A *Lactobacillus kunkeei*-hez hasonlóan a mézgyomorban is megtalálható, de elsődleges előfordulási helye az utóbél. A mézgyomor tizenhárom szimbionta tejsavbaktériuma közül négy tartozik a *Bifidobacterium* fajba. A *Bifidobacteriumok* tejsavbaktérium lévén fontos szerepet töltenek be a méhek egészségének megőrzésében, mivel több faj is képes antimikrobás anyagokat termelni, mint például hidrogén-peroxid és bakteriocin. A méhekkel, egymással, és a virágokkal egyaránt szimbiózisban élő tejsavbaktériumok antimikrobiális szerepét mutatja továbbá az is, hogy gátolják a *Paenibacillus larvae* okozta amerikai, és a *Melissococcus plutonius* által okozott európai költésrothadás kialakulását (mert tejsavat és H₂O₂-t termelnek) (Butler *et al.*, 2013). Erban *et al.* (2017) már említett kutatásában az európai költésrothadás tüneteit mutató méhcsaládokban emelkedett volt többek között a *Bifidobacterium coryneforme* fajba tartozó baktériumok száma, összehasonlítva a tüneteket nem mutató, valamint a nem fertőzött kolóniákkal. E baktérium esetén is feltételezhető, hogy az emelkedett mennyiség a fertőzés legyőzése végett alakult ki (Erban *et al.*, 2017).

A hosszú idő óta fennálló koevolúció eredményeképpen a mézelő méhekben előforduló *Bifidobacterium* törzsek közt nagyfokú változatosság fedezhető fel attól függően, hogy a baktériumok milyen mikrokörnyezeti hatásoknak voltak kitéve (Anderson *et al.*, 2013). A *Bifidobacteriaceae* családba tartozó baktériumok szignifikánsan nagyobb mennyiségben találhatóak meg a kaptáron belüli feladatokat ellátó dolgozók bélsatornájában, mint a kijárókban (Jones *et al.*, 2013).

Klebsiella pneumoniae

A *Klebsiella pneumoniae* az *Enterobacteriaceae* családba tartozó, Gram-negatív baktérium. A mézben annak savassága és magas ozmolaritása miatt nem él túl; egy thai tanulmányban (Srisayam & Chantawannakul, 2010) vizsgált, különböző virágokból származó mézek mindegyike gátolta a *Klebsiella pneumoniae* növekedését, különösen a longan (*Dimocarpus longan*) méz.

Erban *et al.* (2017) a *Klebsiella pneumoniae* előfordulását az amerikai költésrothadással (*Paenibacillus larvae*) összefüggésben vizsgálva arra jutottak, hogy a fertőzéssel érintett méhészetből származó, de klinikai tüneteket nem mutató méhcsaládokban volt megfigyelhető az emelkedett számuk, míg a tüneteket mutató, és a kontroll csoportban (amerikai költésrothadással nem fertőződött méhészetből származó, klinikai tüneteket nem mutató méhcsaládok) ez nem volt jellemző; ez arra enged következtetni, hogy a *K. pneumoniae*-nak az amerikai költésrothadás bevezető szakaszában lehet valamilyen szerepe.

Mivel egyelőre nem született tanulmány arról, hogy milyen hatással van a méhekre ez a baktérium, nem tudok következtetést levonni, hogy mi a jelentősége annak, hogy csak az E1 családban volt jelen.

Escherichia coli

Az *Enterobacteriaceae* családba tartozó Gram negatív baktérium, ami az emlősök bélflórájában és a talajban található meg. Baktériumtörzstől függően okozhat tünetmentes fertőzést, hasmenéses betegségeket, septicaemiát és enterotoxaemiát is.

A tejsavbaktériumok gátolják a növekedését. Ugyan humán patogén, de sem a méhektől, sem a méz felvételével nem alakul ki megbetegedés, mert a mézben nem él túl (ennek okai: pH 3,2-4,5; magas ozmolaritás, magas cukortartalom: 80%, alacsony vízáktivitás) (Audisio *et al.*, 2011), és a mézben található anyagok (flavonoidok, H₂O₂) gátolják is.

Az *Escherichia coli* csak az E1 családban volt kimutatható, ott is relatíve kis mennyiségben, így valószínűleg nincs nagy jelentősége a kutatás szempontjából; valószínűsíthető, hogy a méhek a talajból, a vízből, vagy növények felületéről vehették fel. A baktérium a kaptárban nem tud túlélni, így az emberre és feltehetően a méhekre sem jelent veszélyt a jelenléte.

Lactobacillus bombicola

Gram pozitív tejsavbaktérium, amely leginkább a dongók (*Bombus spp.*) bélflórájára jellemző, így eddig még nem született tanulmány arról, hogy az *Apis* fajokban mi a szerepük. A gazdafajok közötti adaptáció kutatására nyújt lehetőséget az a tulajdonsága, hogy a méhek bélcsatornáját is képes kolonizálni.

Csak az E1 családban volt jelen.

Anaplasma phagocytophilum

Az *Anaplasma phagocytophilum* a *Rickettsia* nemzetségbe tartozó apró baktérium, és mint ilyen, jellemző rá, hogy az anyagcsereje nem teljes, így intenzív kapcsolatban áll a gazdasejttel (obligát sejtparazita). Jellemzően a meleg égövi területeken fordul elő, ízeltlábúakkal terjed, azonban a vektorai nem a mézelő méhek (*Apis mellifera*), hanem a kullancsok (Európában az *Ixodes ricinus*).

Emlősökben kóröszök kullancslázát, valamint a kutya és az ember *granulocytás ehrlichiosisát* okozza. Rendkívül érdekes, hogy miért volt jelen a vizsgált méhcsaládokban (és kizárólag az E1-ben miért nem). Mivel a méhek nem vérszívók, és obligát sejtparaziták révén az anaplasmák nem élnek túl a külvilágon, további kutatást igényel, hogy miért voltak mégis megtalálhatók a vizsgált mintában.

Bartonella apis

Az emlősöket megbetegítő *Bartonella* fajok Gram negatív, fakultatív patogén baktériumok, amelyek vérszívó ízeltlábú vektorok (bolhák, kullancsok, tetvek) útján terjednek. A *Bartonella apis* ezzel szemben a méhekkal (azon belül is csak az *Apis* genuszal [D'Alvise *et al.*, 2017]) szimbiózisban élő, azok bélcsatornájában (az utóbélben, Kwong & Moran, 2016) megtalálható, microaerophil baktérium. A *Bartonella apis* egy relatíve új faj, Kešnerová *et al.* írta le 2016-ban.

Ez a baktériumfaj Jones *et al.* (2018) kutatásaiban a DESeq2 statisztikai teszt eredményei alapján a táplálék-feldolgozó feladatokat ellátó méhekben szignifikánsan nagyobb

mennyiségben volt megtalálható, mint a kijáró méhekben, mivel a növények másodlagos anyagcsere-termékeinek lebontásában szerepet játszó géneket expresszál. Ezen túlmenően azt is megállapították, hogy a *Bartonella apis* mennyisége a bélcsatornában a méhlegelők összetételével változik. Csak az E1 családban nem volt megtalálható.

Clostridium fajok

A *Clostridiumok* a talajban és az emlősök bélcsatornájában előforduló Gram-pozitív, obligát anaerob, fakultatív patogén, biokémiaiilag igen aktív (extracelluláris enzimek termelésére, szénhidrátbontásra képes) baktériumok. Emlősökben fajtól függően gázödémás betegségeket (*C. septicum*, *C. novyi* A, B, C, *C. histolyticum*, *C. haemolyticum*, *C. chauvoei*), enterotoxaemiát (*C. perfringens* A, B, C, D, *C. colinum*), és intoxikációt (*C. tetani*, *C. botulinum*) okozhatnak.

A mézben *Clostridium* spórák előfordulása a méhek és a keretek földdel való szennyezettsége miatt jelentkezhet, továbbá az emlősök bélcsatornájában való előfordulás következményeképpen a *Clostridium botulinum* spórák bélsárpartikulákhoz kötődve, a szél segítségével nagy távolságokra eljuthatnak, és direkt módon (a szél besodorja a bélsárpartikulákat) jutnak be a kaptárba, vagy akár a növények felületén is megkötődhetnek. A kijáró dolgozó méhek a spórákat innen felvehetik, és direkt módon, a testükön behurcolhatják a kaptárba, de előfordulhat indirekt behurcolás is, amikor a gyűjtött vízben, nektárban, pollenben, mézharmatban található spórákat juttatják be. Ez utóbbi mód azt vetíti előre, hogy a spórák a méz készítésének minden fázisában, így a végtermék mézben is megtalálhatók lesznek. A spórák terjedését elősegítő faktorok a nagyüzemi állattartás, a gyakori állatszállítás, az erdőirtások, és a túllegeltetés (Wysok *et al.*, 2017).

Azokban a kaptárakban, ahol a halott méhek és a salakanyagok eltávolítása nem elégséges (ún. nem higiénikus kaptárak) súlyos *C. botulinum* kontamináció alakulhat ki, a felhalmozódó hullák (amikben proliferálódhatott a *C. botulinum*) és ürülék miatt. Megjegyzendő azonban, hogy a méhek béltraktusában a felvétel után két héttel már nem volt kimutatható *Clostridium botulinum* spóra (Yule *et al.*, 2006). Tehát a méhekre nézve valószínűleg nem rendelkezik hatással, eliminálni tudják ezt a baktériumot, továbbá a méz is gátolja, így csak közegészségügyi szempontból fontos a jelenléte. Mivel a csecsemők bélflórája még nem elég fejlett ahhoz, hogy ártalmatlanítani tudja a spórákat, így bennük *per os* felvéve toxikoinfekció alakulhat ki (Laczay, 2018).

Clostridium fajok csak az E1 családban nem voltak megtalálhatók. Az általam vizsgált családok közt nem voltak nem higiénikusak, és a méhlegelőjük megegyezik, tehát nem lehet azt mondani, hogy az E1—a többi családdal ellentétben—pl. nem trágyázott földeket látogatott.

Gilliamella fajok

A *Gammaproteobacteriumok* osztályába tartozó, Gram negatív, a méhek béltraktusában természetes módon, nagy mennyiségben jelen lévő, szimbionta baktérium a *Gilliamella apicola*. Biokémiai tulajdonságai: összetett szénhidrátok lebontásában és feldolgozásában játszik szerepet (ilyen összetett szénhidrát például a pektin, ami a pollen sejtfalában található), ugyanakkor a citromsavciklushoz szükséges kulcsenzimeket nem termel, így feltételezhető, hogy a szénhidrátokat karboxilátokká fermentálja. A méhek számára toxikus monoszacharidok lebontására képes (D'Alvise *et al.*, 2017).

Jones *et al.* (2018) kutatásai alapján más baktériumoktól eltérően a *Gilliamella apicola* (és a *Snodgrassella alvi*) relatív mennyisége a méhek által elvégzett feladatoktól és életkoruktól függetlenül állandó, az adott baktériumfaj jelen lévő törzsei között azonban akadhatnak különbségek a különböző kaptárbéli és kaptáron kívüli feladatok ellátásától függően. A pektináz termeléséért felelős gének kimutatására irányuló PCR vizsgálat (filogenetikai analízissel együtt) Engel & Moran (2013) kutatásában azt az eredményt hozta, hogy a *G. apicola* különböző filogenetikai *clusterei* pektin degradációs képességükben különböznek, tehát a bél mikrobiom törzsek szintjén megmutatkozó genetikai változatosságai kapcsolatban állhatnak a különböző, ökológiailag releváns funkcióikkal. A *Gammaproteobacteriumok*, így a *Gilliamella apicola*, valamint a *Betaproteobacteriumok* (pl. *Snodgrassella alvi*) biofilm formálást és a gazdaszervezettel való interakciót lehetővé tevő tulajdonságokkal rendelkeznek (pilus, külső membrán fehérjék, szekréciós képesség) (Engel & Moran, 2013), ami azért jelentős, mert barrierként szolgálhat a patogénekkal szemben (Hroncova *et al.*, 2015).

Hroncova *et al.* (2015) azt a felfedezést tették, hogy a lárvális fejlődés L5 stádiumában a tejsavbaktérium- és a *Gilliamella* fajokba tartozó baktériumtörzsek diverzitása növekedett, míg a *Snodgrassella alvi* baktériumok száma csökkent.

A baktérium csak az E1 családban nem volt megtalálható.

Commensalibacter sp. (AMU001 törzs)

Az *Acetobacteraceae* családba tartozó ecetsavbaktérium, amely a mézelő méhek normál bélflórájának alkotóeleme, és mint ilyen, a közép- és utóbélben található meg (Siozios *et al.*, 2019). Mint említettem, a bélflóra integritása rendkívül fontos a méhek egészségvédelme szempontjából, így mint állandó bélflóra alkotó, a *Commensalibacter* fajok az egyedek immunrendszerének normál működéséhez járulnak hozzá. Csökkent mennyiségük egyes megbetegedésekre való fogékonyságot jelezhet.

Frischella perrara

Gram negatív, a *Gammaproteobacteriumok* osztályába tartozó baktérium, amelynek a jelenléte kizárólag a mézelő méhek utóbelére korlátozódik, azon belül is az ileumot domináló és biofilmet formáló három baktérium (*G. apicola*, *F. perrara*, *S. alvi*) tagja. A másik két baktériumhoz képest kisebb mennyiségben fordul elő, és akár teljesen hiányozhat is. A biofilm formálás ellenére nem lehet biztosan állítani, hogy a *F. perrara* csak előnyös tulajdonságokkal rendelkezik, mivel az emberi bélben található *E. colira* jellemző, colibactin nevű molekula termelését kódoló locuszhoz hasonlóval rendelkezik. A colibactint citotoxikus hatása révén összefüggésbe hozták a vastagbél tumorok kialakulásával. A *F. perrara* által termelt molekula a colibactinhoz hasonló citotoxikus tulajdonságokat mutatott *in vitro* (Moran, 2015).

Lactobacillus kullabergensis, *Lactobacillus helsingborgensis*, *Lactobacillus apis*

A *Lactobacillus kullabergensis* egy tejsavbaktérium, ami egészen pH 3-ig képes szaporodni (Olofsson *et al.*, 2014), ezekből következően a mézgyomorban található meg nagy számban. Először Olofsson *et al.* írta le 2014-ben, a *Lactobacillus helsingborgensis*szel egyetemben, amely hasonló tulajdonságokkal rendelkezik.

A *Lactobacillus apis* szintén egy tejsavbaktérium, amely döntő mennyiségben a mézgyomorban fedezhető fel, és amelyet nem olyan régen írtak csak le (Killer *et al.* 2014). *In vitro* kísérletekben mind a *Paenibacillus larvae*, mind a *Melissococcus plutonius* növekedését gátolta (Killer *et al.*, 2014).

Mivel mindhárom baktériumfaj relatíve „újnak” számít, nagyon kevés tanulmány született eddig róluk, és arról, milyen hatással van a jelenlétük, illetve hiányuk a méhekre *in vivo*. Feltételezhető, hogy a tejsavbaktériumokra általánosságban jellemző előnyös tulajdonságok (tejsavtermelés által savas kémhatású környezet létrehozása, következményesen pedig az egészségmegőrzés) ezekre a baktériumokra is jellemzőek.

Snodgrassella alvi

Gram negatív, a *Betaproteobacteriumok* osztályába tartozó baktérium, ami a mézelő méhekben (*Apis spp.*) és a dongókban (*Bombus spp.*) egyaránt megtalálható, viszont a *G. apicolához* hasonlóan más gazdafajban és a környezetben nem (Koch *et al.*, 2013). A kifejlett méhek utóbelében található, ahol a biofilm alkotásban vesz részt: közvetlenül a beleket borító hámon helyezkedik el. Metabolikus tulajdonságai gyakorlatilag a *G. apicola* komplementerének tekinthetők, mivel míg a *G. apicola* képes a cukrok lebontására és szénforrásként való felhasználására, addig a *S. alvi* erre nem képes, hanem a cukorlebontás termékeként keletkező karboxilátokat hasznosítja. Ez a „komplementer” jelleg minden *G. apicola* és *S. alvi* törzsre jellemző, ami hosszú ideje fennálló koevolúciót feltételez a két baktériumfaj között (Moran, 2015).

Bifidobacterium asteroides

A *Bifidobacterium asteroides* egy Gram pozitív, *Actinobacteriaceae* családba tartozó tejsavbaktérium, amely a kifejlett méhek és dongók (*Bombus spp.*) utóbelében található (Moran, 2015), ahol a *Bifidobacteriumok* között a legnagyobb számban fordul elő (Bottacini *et al.*, 2012). Érdekessége, hogy a többi *Bifidobacteriummal* ellentétben oxigén jelenlétében is képes növekedni, tehát nem szigorúan anaerob, valamint a B9 vitamin (folsav) szintéziséhez szükséges enzimekkel rendelkezik (Bottacini *et al.*, 2012). Forsgren *et al.* (2010) azt találták, hogy tejsavbaktérium-keverékkel (amely többek között tartalmazott *L. kunkeei*, *L. kullabergensis*, *L. helsingborgensis*, *B. coryneforme*, és *B. asteroides* izolátumokat) táplált lárvák mortalitása csökkent a *Paenibacillus larvae*-val szemben, habár megjegyzendő, hogy ez a csökkenés csupán 70%-ról 55%-ra való változást eredményezett, tehát nem kísérleti körülmények között a fertőzés valószínűleg elpusztította volna a méhcsaládot.

5.4. Növényvédő szerek

A 2018-as, nagymértékű magyarországi méhpusztulás a napraforgó virágzásakor jelentkezett, így feltételezhető, hogy ezen a növényen alkalmazott valamely rovarölő-szer állhat a háttérben. Sajnos azonban az okok felderítésére irányuló vizsgálathoz szükséges mintavétel túl későn kezdődött meg, így az Országos Magyar Méhészeti Egyesület (OMME) segítségével megvalósuló, a NÉBiH Velencei Növényvédő-szermaradék Analitikai Laboratóriumában elvégzett analitikai vizsgálat a minták (víz-, talaj-, növény-,

virágpor-, és méhhulla-minták) közel felében nem talált semmilyen hatóanyagot. Öt virágpormintában volt található klórpirifosz, méhhullákban pedig fipronilt is kimutattak. A klórpirifosz egy szerves foszforsav-észter, amely a központi idegrendszerben az acetilkolin-észteráz bénítja. Szubletális dózisban a méhek tanulási és emlékezési képességeit károsítja (Li *et al*, 2017). E hatóanyag maradékainak megengedett határértéke (MRL) 2017-ben az Európai Unió tagállamok egyhangú szavazatával felülvizsgálatra került, így a legtöbb klórpirifosz hatóanyagú növényvédő szer alkalmazása kukoricán és napraforgón tilossá vált (NÉBiH). A fipronil egy fenilpirazol, és mint ilyen, a GABA és glutamát-mediálta kloridion-csatornákat gátolja a központi idegrendszerben. Növényvédő szerként való használata tiltott az Európai Unió (EU) országaiban (Tóth, 2019).

A talaj- és vízmintákra leginkább a neonikotinoid-szennyezettség (klotianidin, tiametoxam) volt jellemző. A neonikotinoidok a kolinerg jelátvitelt gátolják a központi idegrendszerben. Utóbbi két hatóanyag alkalmazását szintén tiltja az EU (Tóth, 2019).

A tavalyi évben valószínűleg az időjárás is hozzájárult a tömeges méhpusztuláshoz. A késői kitavasodás miatti késői vetés után jelentkező nagy meleg miatt a növények fejlődése nagymértékben felgyorsult, és a szokottnál korábban kezdtek el virágozni. Az intenzív anyagcsere révén több növényvédő szer (-maradék) jutott a növények generatív részeibe, ahonnan a méhek felvehették (Tóth, 2019)

Mivel ezelőtt hasonló komplex vizsgálat még nem történt, és a 2018-as minták és adatok alapján nem született egyértelmű válasz a méhpusztulás okát firtató kérdésre, valamint mivel 2019-ben ismét rengeteg méh pusztult el a napraforgó virágzása alatt, idén emelt mintaszámmal folytatódott a vizsgálat.

A növényvédő szerek között még fontos megemlíteni a glifozát totális gyomirtószert, amelyet világszerte használnak, és amit kapcsolatba hoztak a méhpusztulásokkal. Balbuena *et al.* (2015) kutatásában azt találta, hogy a méhlegelőn befogott, szubletális glifozát dózissal kezelt, majd egy másik helyen elengedett méhek minél többször, minél nagyobb dózis glifozátot tartalmazó cukorszirupot kaptak, annál nehezebben találtak vissza a kaptárukba. Dai *et al.* (2018) a méhlárvák túlélését vizsgálta annak függvényében, hogy milyen mennyiségű glifozátot tartalmazó cukorsziruppal táplálták őket. Azt találták, hogy a 0,8 mg glifozát/1 l cukorszirup oldat még nem befolyásolta a lárvák túlélési rátáját, az megegyezett a negatív kontrollcsoportéval, azonban a 4 és 20 mg/l glifozát etetése már szignifikánsan csökkentette a lárvák túlélési esélyeit, viszont fejlődésükre nem volt hatással. Motta *et al.* (2018) kutatása pedig arra világított rá, hogy a glifozátot kapott méhek bélcsatornájában a *Snodgrassella alvi*, valamint egyéb, normál bélflórát alkotó

baktériumok mennyisége is szignifikánsan csökkent a kontrollcsoporthoz képest. Ez a csökkenés előbb jelentkezett azon csoport esetében, amely nagyobb mennyiségű növényvédő szert tartalmazó cukorszirupot kapott. Ennek magyarázata, hogy a mézelő méhek normál bélflóráját felépítő baktériumok nagy része rendelkezik azzal az enzimmel (EPS), amelyet a glifozát bénítani képes, így ezek a mikroorganizmusok érzékenyek erre a növényvédő szerre. Dai *et al.* (2018) szintén azt találták, hogy a 20 mg/l glifozáttal etetett méhcsoport egyedei bélflórájának diverzitása szignifikánsan csökkent a 0,8 mg/l, a 4 mg/l glifozátos, és a negatív kontrollcsoporthoz képest. A bélflóra összetételének és mennyiségének megváltozása pedig hozzájárulhat a méhek csökkent ellenálló-képességéhez, illetve halálukhoz. A glifozátot egyébként emberre is potenciálisan rákkeltőnek találták.

6. Következtetések

Komplex, időjárási adatokat, nosema-, vírus-, és metagenomikai vizsgálatot összegző tanulmány tudomásom szerint még nem született Magyarországon Hasonlóan összetett monitoring vizsgálatba kezdett az Országos Magyar Méhészeti Egyesület a NÉBiH-hel karöltve a 2018-as nagymértékű méhpusztulás után. Konkrét válaszokat ugyanakkor még nem publikáltak a szakdolgozatom írásának idején, így a kutatás eredményét nem állt módomban összehasonlítani a szakdolgozat adataival.

Nosemosis szempontjából a legtöbbször enyhe, vagy enyhe-közepes fertőzöttséget detektáltam, amit a méhcsaládok kezelés nélkül is le tudnak győzni. Azonban az utolsó vizsgálatom eredménye a legtöbb család esetében súlyos fertőzöttséget mutatott, ami hozzájárulhatott a 2019-es év rendkívül rossz termelési mutatóihoz.

Mivel az esetlegesen kimutatott méh RNS-vírusok a kijáró méhekre nem jelentenek közvetlen veszélyt, az általuk okozott károk nem jelentkeznek a termelés szintjén, így e kórokozók jelentősége gazdasági szempontból kizárható.

A gyengébb családok bélcsatornájában nagyobb mennyiségben volt jelen a *L. kunkeei*, a *B. coryneforme*, és a *F. perrara*. Tulajdonságaikat tekintve csak a *F. perrara* esetében merül fel, hogy gyengítő hatást gyakorolhat a méhek ellenálló-képességére, de bizonyíték (*in vivo* kísérletek) hiányában ez nem mondható ki biztosan.

Az erősebbnek gondolt méhcsaládok esetében a *Commensalibacter AMU001*, és a *L. kullabergensis* voltak nagyobb mennyiségben megtalálhatók a gyengébb kolóniákhoz

képest, és mivel mindkét baktériumfaj jelenléte a bélflórában jótékony hatást gyakorol az egyedekre, így feltételezhető, hogy közrejátszanak a GY-E különbségben.

Csak az E1 családban voltak megtalálhatók a következő mikroorganizmusok: AmFV, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *L. bombicola*. Ezek közül a *L. bombicola* feltehetően előnyös tulajdonságokkal rendelkezik, ami hozzájárulhat a család erősségéhez; a további baktériumok és az AmFV hatása pedig egyelőre tisztázatlan. A csak az E1 családban nem megtalálható baktériumok közül a *Clostridium* fajoknak feltehetően sem negatív, sem pozitív hatásuk nincs a méhek ellenálló képességére; a *B. apis* és a *Gilliamella* fajok szimbiózisban élnek a gazdafajjal, így jelenlétük előnyös. Mivel a bizonyítottan jótékony hatású baktériumok közül kettő olyan is volt, ami csak az E1 családban nem volt fellelhető, a logikus következtetés az volna, hogy az adott család ellenálló képessége gyengébb, mint bármely másik vizsgált kolóniáé, ez azonban nem így van. Ez is azt mutatja, hogy a méhek egészségét nem csupán egy-egy tényező befolyásolja, hanem rendkívül komplex, biotikus és abiotikus tényezők egymásra hatásának következménye. Abiotikus tényezőként első sorban az időjárást említeném, amely a vegetáció, a méhlegelő összetétele, minősége befolyásolása szempontjából mindenképp hatással van a beporzókra. Az általam rögzített meteorológiai adatok mutatnak ugyan eltérést az egyes telephelyeken, azonban a túl kevés termelési adat miatt nem lehet megfelelő biztonsággal következtetést levonni.

A Fulmer Kft. a méretéből fakadóan jelentős erőforrásokat tud a méhbetegségek kezelésére és új technológiák kifejlesztésére áldozni; kisebb méhészetek azonban potenciálisan nincsenek abban a helyzetben, hogy különböző gyógymódokkal és módszerekkel kísérletezzenek, így ott sokkal komolyabb problémát jelent a betegségekkel szembeni hathatós fellépés (anyaghiány, technológia vagy tudás hiánya stb.). A Fulmer Kft. méhcsaládjainál jelentkező gondok gyaníthatóan hatványozottan érintik azokat a kisebb méhészeteket, ahol nem állnak rendelkezésre a megfelelő eszközök azoknak leküzdésére. Habár a probléma komplex, a megoldása nem reménytelen, azonban hatékony együttműködést és komoly szabályozást igényel: az szélsőséges időjárási jelenségek háttérben meghúzódó folyamatok a globális klímaváltozás tünete, ez a gondolati sík azonban messzebbre mutat, mint e szakdolgozat határai. Egy olyan pont, ahol azonban kézzelfoghatóbb, gyorsabb változást lehetne elérni, az a növényvédőszer (neonikotinoidok, stb.) alkalmazásának területe. Annak ellenére, hogy az Európai Unióban 2013-ban már részleges tilalom alá vonták az imidakloprid, a klotianidin, és a tiametoxám használatát, Magyarországon eseti engedélyek kérelme után továbbra is használták ezeket a szereket. 2018-ban a neonikotinoid növényvédő szerek szabadföldi alkalmazása teljesen

tilossá vált, így hazánkban csak tavaly óta nem használják az említett hatóanyagokat. A neonikotinoid népszerű volt a gazdák körében: olcsón beszerezhető vegyszerről van szó, amely rendkívül hatékony a kártevők (és más, fontos élőlények) elpusztításában. A 2018-as nagy magyarországi méhelhullás után 2019-ben sokkal jobb évet zártak a méhészek: kevesebb megbetegedést regisztráltak, ugyanis a neonikotinoid idővel kiürül a földből, így a tiltás lehetőséget ad arra, hogy megerősödhessenek a méhcsaládok. Nagy veszélyt jelent a már korábban betiltott fipronil illegális használata. A klórpifosz kivonása is folyamatban van világszerte.

Úgy gondolom, hogy hosszú távon szükség van a közfigyelemre a beporzók védelmében, ezen túl pedig tovább kell kutatni a méheken a környezeti stresszorok működését, valamint ezek egymásra gyakorolt esetleges szinergista hatását az *Apis mellifera* megőrzésének érdekében.

7. Összefoglaló

A mézelő méhek jelentős beporzók, és mint ilyenek, a takarmány- és élelmiszeriparban fontos szerepet töltenek be, így védelmük elsődleges feladat. A jellemzően monokultúras mezőgazdaság, a változó időjárás, a növényvédőszer alkalmazása, és a patogén mikroorganizmusok csak néhány példa a méheket érő környezeti hatásokra, amik befolyásolhatják az életképességüket, élettartamukat, és termelésüket.

A kutatásomban három telephelyen két-két, a Fulmer Gmbh. tulajdonában álló méhcsalád nosema- és RNS-méhvírus-fertőzöttségét, valamint a méhekre ható környezeti hatások (a külső levegő hőmérséklete, a levegő relatív páratartalma, és harmatpont) összehasonlítását végeztem egy éven keresztül. Ezen túl a pogányi telephely méheinek bélcsatornája metagenetikai vizsgálatnak is alávettem.

A vizsgált telephelyek méhcsaládjai eltérő termelési mutatókkal rendelkeznek. Ezt a termelésbeli különbséget a hipotézisem szerint valamilyen külső tényező okozza, mivel minden telephelyen azonos technológiát alkalmaznak.

A három telephely kiválasztásánál a szempont az volt, hogy a kutatásban egy általánosságban gyenge, egy közepes erősségű, és egy erős méhcsaládokkal rendelkező telephely kerüljön kiválasztásra. A három helyszínen meteorológiai állomást helyeztem el, valamint élő méheket befőttes üvegbe gyűjtöttem, majd a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatóságába szállítottam őket, ahol a Nosema- és a vírusfertőzöttségre derítettek fényt. A méh-metagenom vizsgálathoz a méhek szárazjégre tétele után a bélcsatornájuk eltávolítására volt szükség, amiből a SeqOmics Kft. állapította meg, hogy milyen mikroorganizmusok találhatóak meg ott.

Nosemával való kisebb-nagyobb mértékű fertőzöttség a kutatásom egy éve alatt minden méhcsaládban előfordult. RNS-vírusfertőzöttséget tekintve az öt vizsgált méhvírus (heveny méhbénulás vírus, fekete anyabölcső vírus, krónikus méhbénulás vírus, deformált szárny vírus, költéstömlősödés vírus) közül csak a krónikus méhbénulás vírus nem fordult elő egyszer sem, semelyik méhcsaládban. A méh-metagenom vizsgálattal kimutatásra került az *Apis mellifera filamentosus virus*, valamint számos tejsavbaktérium, és emlősök bélcsatornájában előforduló baktérium is.

Szakedolgozatom rávilágít, hogy a méhek pusztulását és termelésük csökkenését nem egy, hanem számos tényező okozza: az időjárási jelenségek, az agresszív növényvédő szerek és a patogén mikroorganizmusok együtt több oldalról gyengítik a méheket. A probléma rendkívül komplex, és sürgősen megoldást kíván, így további kutatást igényel.

8. Summary

Honeybees are important pollinators thus take a great part in feed and food industry; their protection should be a number one priority. Monoculture, changing weather, insecticides, and pathogen microorganisms are a few examples to environmental factors that could alter the bees' viability, production, and shorten their lifespan.

I first selected three sites, then two honeybee colonies in each site to examine. In my study I compared the Nosema and RNS honeybee virus infection as well as the environmental factors (temperature, relative humidity, and dew point) in the chosen colonies for a year. Moreover, the bees of Pogány site have been selected to perform a metagenetic examination on their gut.

The colonies of the examined sites differ from each other in production levels. According to my hypothesis this is caused by an external factor as the same technology is being applied on every site.

The main point in choosing the sites was to have one with generally weak, one with middle-strength, and one with strong colonies. A weather-station was placed in each site, and I collected living bees into a jar to transport them to the National Food Chain Safety Office Veterinary Diagnostics Directorate, to determine their Nosema- and virus infections. Placing the bees in dry ice, then removing their gut was needed for the metagenetic examination, which was performed by SeqOmics Kft. to determine what kind of microorganisms can be found in the bowels of the honeybees.

Nosema infection was detected in both lower and higher rates in every colony throughout the year. From the five examined honeybee RNS viruses (acute bee paralysis virus, black queen cell virus, chronic bee paralysis virus, deformed wing virus, sackbrood virus) only chronic bee paralysis virus was never detected in any of the colonies. *Apis mellifera filamentous virus*, several lactic acid bacteria, and some bacteria occurring in mammals' bowels could be seen within the microorganisms that have been found with the metagenetic test.

This thesis aims to highlight that the death of the bees and the smaller rates of production are most likely caused by not one but several factors, including weather activity, aggressive insecticides and pathogen microorganisms that add up in weakening the bees. This is a complex problem that needs urgent solution, therefore requires further research.

9. Irodalomjegyzék

Anderson, K. E., Carroll, M. J., Sheehan, T., Mott, B. M., Maes, P., Corby-Harris, V., 2014: Hive stored pollen of honey bees: many lines of evidence are consistent with pollen preservation, not nutrient conversion. *Molecular Ecology*, 23(23). 5904-5917.

Anderson, K. E., Johansson, A., Sheehan, T. H., Mott, B. M., Corby-Harris, V., Johnstone, L., Sprissler, R., Fitz, W., 2013: Draft genome sequences of two *Bifidobacterium* sp. from the honey bee (*Apis mellifera*). *Gut Pathogens*, 5(42).

Audisio, M. C., Torres, M. J., Sabaté, D. C., Ibarguren, C., Apella, M. C., 2011: Properties of different lactic acid bacteria isolated from *Apis mellifera* L. bee-gut. *Microbiological Research*, 166(1). 1-13.

Balbuena, M. S., Tison, L., Hahn, M. L., Greggers, U., Menzel, R., Farina, W. M., 2015: Effects of sublethal doses of glyphosate on honeybee navigation. *Journal of Experimental Biology*, 218. 2799-2805.

Dr. Békési László Szabolcs, 2012: Méhbetegségek. Budapest, Apiliteratura hungarica. p41-45; 58-62.

Békési, L., Ball, B. V., Dobos-Kovács, M., Bakonyi, T., Rusvai, M., 1999: Occurrence of acute paralysis virus of the honey bee (*Apis mellifera*) in a Hungarian apiary infested with the parasitic mite *Varroa jacobsoni*. *Acta Veterinaria Hungarica*, 47(3). 319-324.

Bottacini, F., Milani, C., Turrone, F., Sánchez, B., Foroni, E., Duranti, S., Serafini, F., Viappiani, A., Strati, F., Ferratini, A., Delledonne, M., Henrissat, B., Coutinho, P., Fitzgerald, G. F., Margolles, A., van Sinderen, D., Ventura, M., 2012: *Bifidobacterium asteroides* PRL2011 genome analysis reveals clues for colonization of the insect gut. *PLoS One*, 7(9).

Butler, É., Alsterfjord, M., Olofsson, T. C., Karlsson, C., Malmström, J., Vásquez, A., 2013: Proteins of novel lactic acid bacteria from *Apis mellifera mellifera*: an insight into the production of known extra-cellular proteins during microbial stress. *BMC Microbiology*, 13(235).

Carreck, N. L., Ball, B. V., Martin, S. J., 2010: Honey bee colony collapse and changes in viral prevalence associated with *Varroa destructor*. *Journal of Apicultural Research*, 49(1). 93-94.

Carreck, N. L., Ball, B. V., Wilson, J. K., 2002: Virus succession in honeybee colonies infested with *Varroa destructor*. *Apiacta*, 1.

Dai, P., Yan, Z., Ma, S., Yang, Y., Wang, Q., Hou, C., Wu, Y., Liu, Y., Diao, G., 2018: The herbicide glyphosate negatively affects midgut bacterial communities and survival of honey bee during larvae reared in vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(29). 7786-7793.

- D'Alvise, P., Böhme, F., Codrea, M. C., Sietz, A., Nahnsen, S., Binzer, M., Rosenkranz, P., Hasselmann, M., 2017: The impact of winter feed type on intestinal microbiota and parasites in honey bees. *Apidologie*, 49(2). 252-264.
- Djukic, M., Poehlein, A., Strauß, J., Tann, F. J., Leimbach, A., Hoppert, M., Daniel, R., 2015: High quality draft genome of *Lactobacillus kunkeei* EFB6, isolated from a German European foulbrood outbreak of honeybees. *Standards in Genomic Sciences*, 10(16).
- Doublet, V., Labarussias, M., de Miranda, J. R., Moritz, R. F. A., Paxton, R. J., 2015: Bees under stress: sublethal doses of a neonicotinoid pesticide and pathogens interact to elevate honey bee mortality across the life cycle. *Environmental Microbiology*, 17(4). 969-983.
- Engel, P., Moran, N. A., 2013: Functional and evolutionary insights into the simple yet specific gut microbiota of the honey bee from metagenomic analysis. *Gut Microbes*, 4(1).
- Erban, T., Ledvinka, O., Kamler, M., Hortova, B., Nesvorna, M., Tyl, J., Titera, D., Markovic, M., Hubert, J., 2017: Bacterial community associated with worker honeybees (*Apis mellifera*) affected by European foulbrood. *PeerJ*, 25(5).
- Erban, T., Ledvinka, O., Kamler, M., Nesvorna, M., Hortova, B., Tyl, J., Titera, D., Markovic, M., Hubert, J., 2017: Honeybee (*Apis mellifera*)-associated bacterial community affected by American foulbrood: detection of *Paenibacillus larvae* via microbiome analysis. *Scientific Reports*, 7(5084).
- Forsgren, E., Olofsson, T. C., Vásquez, A., Fries, I., 2010: Novel lactic acid bacteria inhibiting *Paenibacillus larvae* in honey bee larvae. *Apidologie*, 41(1). 99-108.
- Goulson, D., 2012: Decline in bees forces China's apple farmers to pollinate by hand.[pdf.] URL: <https://www.chinadialogue.net/article/show/single/en/5193-Divorce-of-bees-forces-China-s-apple-farmers-to-pollinate-by-hand>. Megtekintve: 2019. 08. 29.
- Hartmann, U., Forsgren, E., Charrière, J. D., Neumann, P., Gauthier, L., 2015: Dynamics of *Apis mellifera* Filamentous Virus (AmFV) infections in honey bees and relationships with other parasites. *Viruses*, 7(5). 2654-2667.
- Hegazi, A., Abd E. M., Sherein I., Abdou, A. M., Abd Allah, F., 2014: Antibacterial activity of some types of monofloral honey against *Clostridium acetobutylicum* and *Clostridium perfringens*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(9). 552-565.
- Hroncova, Z., Havlik, J., Killer, J., Duskocil, I., Tyl, J., Kamler, M., Titera, D., Hakl, J., Mrazek, J., Bunesova, V., Rada, V., 2015: Variation in honey bee gut microbial diversity affected by ontogenetic stage, age and geographic location. *PLoS One*, 10(3).
- Jones, J. C., Fruciano, C., Marchant, J., Hildebrand, F., Forslund, S., Bork, P., Engel, P., Hughes, W. O. H., 2018: The gut microbiome is associated with behavioural task in honey bees. *Insectes Sociaux*, 65(3). 419-429.

- Kesnerová, L., Moritz, R., Engel, P., 2016: *Bartonella apis* sp. nov., a honey bee gut symbiont of the *Alphaproteobacteria*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66. 414-421.
- Killer, J., Dubnná, S., Sedláček, I., Svec, P., 2014: *Lactobacillus apis* sp. nov., from the stomach of honeybees (*Apis mellifera*), having an *in vitro* inhibitory effect on the causative agents of American and European foulbrood. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64(1).
- Koch, H., Abrol, D. P., Li, J., Schmid-Hempel, P., 2013: Diversity and evolutionary patterns of bacterial gut associates of corbiculate bees. *Molecular Ecology*, 22(7).
- Krikó, E., Farkas, R., Adorján, A., Makrai, L., Solymosi, N., 2018: Metagenomika – a velünk élő mikroorganizmusok megismerésének új megközelítése. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 140. 423-429.
- Kwong, W. K., Moran, N. A., 2016: Gut microbial communities of social bees. *Nature Reviews Microbiology*, 14(6). 374-384.
- Laczay Péter, 2018: Élelmiszer-higiéncia, élelmiszerlánc-biztonság. Budapest, A/3 Nyomdaipari és Kiadói Szolgáltató Kft. p575.
- Li, Z. G., Li, M., Huang, J. N., Ma, C. S., Xiao, L. C., Huang, Q., Zhao, Y. Z., Nie, H. Y., Su, S. K., 2017: Effects of sublethal concentrations of chlorpyrifos on olfactory learning and memory performances in two bee species, *Apis mellifera* and *Apis cerana*. *Sociobiology*, 64(2). 174-181.
- Moran, N. A., 2017: Genomics of the honey bee microbiome. *Current Opinion in Insect Science*, 10. 22-28.
- Motta, E. V. S., Raymann, K., Moran, N. A., 2018: Glyphosate perturbs the gut microbiota of honey bees. *PNAS*, 115(41). 10305-10310.
- Olofsson, T. C.; Alstrefjord, M., Nilson, B., Butler, É., Vásquez, A., 2014: *Lactobacillus apinorum* sp. nov., *Lactobacillus mellifer* sp. nov., *Lactobacillus mellis* sp. nov., *Lactobacillus melliventris* sp. nov., *Lactobacillus kimbladii* sp. nov., *Lactobacillus helsingborgensis* sp. nov. and *Lactobacillus kullabergensis* sp. nov., isolated from the honey stomach of the honeybee *Apis mellifera*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64(9). 3109-3119.
- Siozios, S., Moran, J., Chege, M., Hurst, G. D. D., Paredes, J. C., 2019: Complete reference genome assembly for *Commensalibacter* sp. strain AMU001, an acetic acid bacterium isolated from the gut of honey bees. *Microbiology Resource Announcements*, 8(1).
- Srisayam, M., Chantawannakul, P., 2010: Antimicrobial and antioxidant properties of honeys produced by *Apis mellifera* in Thailand. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, 2(2). 77-83.

- Switanek, M., Crailsheim, K., Truhetz, H., Brodschneider, R., 2017: Modelling seasonal effects of temperature and precipitation on honey bee winter mortality in a temperate climate. *Science of the Total Environment*, 579. 1581-1587.
- Tantillo, G., Bottaro, M., Di Pinto, A., Martella, V., Di Pinto, P., Terio, V., 2015: Virus infections of honeybees (*Apis mellifera*). *Italian Journal of Food Safety*, 4(5364).
- Tapasztai, Zs., Forgách, P., Kővágó, Cs., Békési, L., Bakonyi, T., Rusvai, M., 2009: First detection and dominance of *Nosema ceranae* in Hungary. *Acta Veterinaria Hungarica*, 57(3). 383-388.
- Tóth Péter, 2019: Ezek az okai a méhpusztulásnak – Így látja a méhészeti szaktanácsadó. [html.] URL: <https://www.agrarszektor.hu/allat/ezek-az-okai-a-mehpusztulasnak-igy-latja-a-meheszeti-szaktanacsado.15573.html>. Megtekintés ideje: 2019. 08. 03.
- Vásquez, A., Forsgren, E., Fries, I., Paxton, R. J., Székely, L., Olofsson, T. C., 2012: Symbionts as major modulators of insect health: lactic acid bacteria and honeybees. *PLoS One*, 7(3).
- Wysok, B., Wojtacka, J., Karczmarczyk, R., Wiszniewska-Łaszczych, A., Gomółka-Pawlicka, M., Sztejn, J., Liedtke, K., 2017: Honey sold directly by producers in the Silesian Region of Poland as a source of *Clostridium botulinum* types A, B, E, and F. *Czech Journal of Food Sciences*, 35(3). 194-199.
- Yule, A. M., Barker, I. K., Austin, J. V., Moccia, R. D., 2006: Toxicity of *Clostridium botulinum* type E neurotoxin to Great Lakes fish: implications for avian botulism. *Journal of Wildlife Diseases* 42(3). 479-493.
- Zana, B., Geiger, L., Kepner, A., Földes, F., Urbán, P., Herczeg, R., Kemenesi, G., Jakab, F., 2019: First molecular detection of *Apis mellifera Filamentous Virus* in honey bees (*Apis mellifera*) in Hungary. *Acta Veterinaria Hungarica*, 67(1). 151-157.

HuVetA
ELHELYEZÉSI MEGÁLLAPODÁS ÉS SZERZŐI JOGI NYILATKOZAT*

Név: VÁROSI DOMINIKA.....
Elérhetőség (e-mail cím): domi.varosi@gmail.com.....
A feltöltendő mű címe: Műhelytől egészséggig: pszichésbiológiai és környezet-
...analízis vizsgálata dél-magyarországi vidékes településeken.....
A mű megjelenési adatai: 2019.....
Az átadott fájlok száma: 1.....

Jelen megállapodás elfogadásával a szerző, illetve a szerzői jogok tulajdonosa nem kizárólagos jogot biztosít a HuVetA számára, hogy archiválja (a tartalom megváltoztatása nélkül, a megőrzés és a hozzáférhetőség biztosításának érdekében) és másolásvédett PDF formára konvertálja és szolgáltatssa a fenti dokumentumot (beleértve annak kivonatát is).

Beleegyeznek, hogy a HuVetA egynél több (csak a HuVetA adminisztrátorai számára hozzáférhető) másolatot tároljon az Ön által átadott dokumentumból kizárólag biztonsági, visszaállítási és megőrzési célból.

Kijelenti, hogy az átadott dokumentum az Ön műve, és/vagy jogosult biztosítani a megállapodásban foglalt rendelkezéseket arra vonatkozóan. Kijelenti továbbá, hogy a mű eredeti és legjobb tudomása szerint nem sérti vele senki más szerzői jogát. Amennyiben a mű tartalmaz olyan anyagot, melyre nézve nem Ön birtokolja a szerzői jogokat, fel kell tüntetnie, hogy korlátlan engedélyt kapott a szerzői jog tulajdonosától arra, hogy engedélyezhesse a jelen megállapodásban szereplő jogokat, és a harmadik személy által birtokolt anyagrészt mellett egyértelműen fel van tüntetve az eredeti szerző neve a művön belül.

A szerzői jogok tulajdonosa a hozzáférés körét az alábbiakban határozza meg (**egyetlen, a megfelelő négyzetben elhelyezett x jellel**):

- engedélyezi, hogy a HuVetA-ban -ban tárolt művek korlátlanul hozzáférhetővé váljanak a világhálón,
- az Állatorvostudományi Egyetem belső hálózatára (IP címekre) korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- a Könyvtárban található, dedikált elérést biztosító számítógépre korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- csak a dokumentum bibliográfiai adatainak és tartalmi kivonatának feltöltéséhez járul hozzá (korlátlan hozzáféréssel),

Kérjük, **nyilatkozzon a négyzetben elhelyezett jellel a helyben használatról is:**



Engedélyezem a dokumentum(ok) nyomtatott változatának helyben olvasását a könyvtárban.

Amennyiben a feltöltés alapját olyan mű képezi, melyet valamely cég vagy szervezet támogatott illetve szponzorált, kijelenti, hogy jogosult egyetérteni jelen megállapodással a műre vonatkozóan.

A HuVetA üzemeltetői a szerző, illetve a jogokat gyakorló személyek és szervezetek irányában nem vállalnak semmilyen felelősséget annak jogi orvoslására, ha valamely felhasználó a HuVetA-ban engedéllyel elhelyezett anyaggal törvénytörtő módon visszaélne.

Budapest, 2019 évA.....hó ...A....nap



aláírás
szerző/a szerzői jog tulajdonosa

A HuVetAMagyar Állatorvos-tudományi Archívum – Hungarian Veterinary Archive az Állatorvostudományi Egyetem Hutjra Ferenc Könyvtár, Levéltár és Múzeum által működtetett egyetemi és szakterületi online adattár, melynek célja, hogy a magyar állatorvos-tudomány és -történet dokumentumait, tudásvagyonát elektronikus formában összegyűjtse, rendszerezze, megőrizze, kereshetővé és hozzáférhetővé tegye, szolgáltatssa, a hatályos jogi szabályozások figyelembe vételével.

A HuVetA a korszerű informatikai lehetőségek felhasználásával biztosítja a könnyű, (internetes keresőgépekkel is működő) kereshetőséget és lehetőség szerint a teljes szöveg azonnali elérését. Célja ezek révén

- *a magyar állatorvos-tudomány hazai és nemzetközi ismertségének növelése;*
- *a magyar állatorvosok publikációira történő hivatkozások számának, és ezen keresztül a hazai állatorvosi folyóiratok impakt faktorának növelése;*
- *az Állatorvostudományi Egyetem és az együttműködő partnerek tudásvagyonának koncentrált megjelenítése révén az intézmények és a hazai állatorvos-tudomány tekintélyének és versenyképességének növelése;*
- *a szakmai kapcsolatok és együttműködés elősegítése,*
- *a nyílt hozzáférés támogatása.*

Nyilatkozat a TDK és a diplomamunka azonosságáról

Alulírott VAROSI DOMINIKA..... nyilatkozom, hogy diplomamunkám,
melynek címe MÉHSZALADOK EGÉSZSÉGTUDYI, PRODUKCIÓSBIOLOGIAI, ÉS KÖRNYEZET-
ANALITIKAI VIZSGÁLATA DÉL-MAGYARORSZÁGI MÉHÉSZETI TELEPHELYEKEN.....
tartalmi és formai szempontból teljes mértékben megegyezik az azonos című, a 2019.....
évi TDK konferencián szerepelt dolgozatommal.

Budapest, 2019. 11. 19......

Varosi Dominka



a hallgató neve és aláírása

Konzulensi ellenjegyzés

Alulírott DR. BÉKÉSI LÁSZLÓ SZABOLCS igazolom, hogy

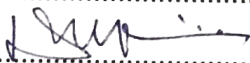
..... VÁRÓSI DOMINIKA (a hallgató neve)

..... MÉHCSALÁDOK EGÉSZSÉGTUDYI, PRODUKCIÓBIOLÓGIAI, ÉS KÖRNYEZETANALITIKAI

..... VIZSGÁLATA DÉL-MAGYARORSZÁGI MÉHÉSZETI TELEPHELYEKEN

című diplomamunkáját ismerem, azt beadásra és védésre alkalmasnak tartom.

Budapest, 2019. 11. 19.

..... DR. BÉKÉSI LÁSZLÓ
..... 

a témavezető neve és aláírása

..... Parazitológiai és Allergiain Tanszék
.....

tanszék