

**T A**  
**Č R**



**Kašpar F, Titěra D, Langrová I**

**Metodika stanovení plemenné příslušnosti včely medonosné  
metodou geometrické morfometrie křídel.**

**2017**

## **Metodika stanovení plemenné příslušnosti včely medonosné metodou geometrické morfometrie křídel.**

Certifikovaná metodika

Metodika vznikla s podporou Technické agentury České republiky

jako plánovaná publikace výsledků projektu číslo TA04020317

Mapování populace včely medonosné v České republice

Autoři:

RND. František Kašpar, Ing. Dalibor Titěra (Výzkumný ústav včelařský, s.r.o.)

Prof. Ing. Iva Langrová, CSc (Katedra zoologie a rybářství, FAPPZ, Česká zemědělská univerzita v Praze

Lektorovali:

Ing. Petr Krejčík, Ministerstvo zemědělství

Ing. Zuzana Hroncová, Ph.D., Výzkumný ústav živočišné výroby v Uhříněvsi

Obsah

- 1) Cíl metodiky
- 2) Vlastní popis metodiky
  - 2.1 Velikost vzorku
  - 2.2 Odběr vzorku
  - 2.3 Příprava vzorku
  - 2.4 Digitalizace vzorku
  - 2.5 Snímání souřadnic landmarků
  - 2.6 Statistické zpracování
  - 2.7 Hodnocení výsledků analýzy
- 3) Prohlášení o poskytovateli dotace na projekt a projektu, v rámci kterého metodika vznikla
- 4) Zdůvodnění, čím je navrhovaná metodika nová
- 5) Popis uplatnění metodiky, informace pro koho je určena a jakým způsobem bude uplatněna
- 6) Seznam použité související literatury
- 7) Seznam publikací, které předcházejí metodice a byly publikovány
- 8) Příloha

ISBN 978-80-87196-38-0

## 1. Cíl metodiky

Včela medonosná jako druh vznikla patrně sympatrickou speciací z izolovaných populací včely východní (*Apis cerana*) asi před 6 miliony let. Z Asie, původní oblasti výskytu, se jako evolučně velmi úspěšný druh rozšířila postupně do Afriky i Evropy. Při šíření se postupně přizpůsobovala novým patogenům, klimatickým, geografickým i jiným podmínkám a vytvořila přirozeným způsobem místně přizpůsobené populace- ekotypy (poddruhy, rasy, geografická plemena).

Evropské rasy včel se utvářely hlavní měrou v období po poslední době ledové (asi před 10 000 lety) šířením ze dvou glaciálních refugií- na Iberském poloostrově a Malé Asii s přilehlým poloostrovem Peloponés. Fylogeneticky jsou tedy rasy vzniklé ze dvou takto dlouhodobě izolovaných oblastí poměrně vzdálené a šíření proběhlo ve dvou nezávislých větvích. Území České republiky se nacházelo převážně v dynamické hybridní zóně vzniklé křížením poddruhů *Apis mellifera mellifera* a *Apis mellifera carnica*, tedy v místě dotyku obou větví. V období posledních 200-300 let do oblastí přirozeného šíření včely medonosné výraznou měrou zasáhl člověk stále intenzivnějším hospodářským využíváním včelstev. S tím byl spojen hromadný přesun včelstev a později matek především oblíbených ras *Apis mellifera carnica*, *Apis mellifera ligustica* a *Apis mellifera caucasica*.

Na území České republiky došlo dovozem matek cizích plemen k nekontrolovatelnému křížení (bastardizaci) a konečně i k zániku původní populace včely medonosné. Na sklonku 19. století byl konstatován neúspěch dovozu a špatné zkušenosti s bastardy různých plemen a byl vyhlášen rozsáhlý plemenářský program, označovaný jako návrat k původnímu tmavému plemenu. V tomto období se silně oslabil vliv ligustiky, protože ji bylo možné v křížencích podle barvy snadno odlišit. Naopak vliv kraňky, na první pohled zevnějškem shodné s domácí včelou zůstal a pozdějším výběrem dokonce zesílil. Výběrem a vhodnou zootechnikou se rojivost původních kraňských včel omezila a kraňka začala lépe vyhovovat využíváním časných snůšek z nově pěstovaných zemědělských plodin. Vliv kraňky po první světové válce byl zesílen i dalšími dovozy prošlechtěných kmenů. Na rozdíl od dřívějších importů z minulého století šlo o kmeny, které se liší od dřívějších kraněk jižnější proveniencí nerojivostí, výbornou aklimatizační schopností a mírností. Návrat k původní populaci včely medonosné se tudíž nepodařilo realizovat, naopak byl posílen vliv včely medonosné kraňské.

Z průzkumu vybraných chovů oblastních stanic z let 1965 - 1966 vyplynulo, že u nás již tmavé plemeno včel v čisté formě přestalo existovat a že se exteriér naší včely buď úplně

shoduje, nebo velice blíží standardu kraňského plemene včely medonosné. Srovnávací pokusy, započaté v roce 1967, vyhodnotily rozdíly mezi částečně pokříženou včelou našich oblastních špičkových chovů a kraňským plemenem včel, a to alpským typem, kmenem Troiseck, dovezeným od nejlepších chovatelů z Rakouska. Výsledky jednoznačně prokázaly přednosti čistého kraňského plemene včel; předčily naši včelu mírností, klidem při manipulaci, jarním rozvojem, přizpůsobivostí a schopností využívat snůšku z jetele lučního. V rojivosti a ve vnímavosti vůči noseμόze nebyly zjištěny rozdíly. V roce 1970 byla přijata dlouhodobá koncepce chovu matek s jednoznačně formulovaným úkolem přechodu k plemeni čisté včely medonosné kraňské. Tento program je podmíněn existencí silné a stabilní základny plemenářské, která by užitkovým chovům dodávala oplozené včelí matky požadovaných vlastností a plemenné čistoty.

Trendem posledních 10 let je však velký nárůst obchodu s oddělkami. Poptávka indukuje produkci desítek tisíc oddělků s matkami bez původu a distribuci po celém území. Ohrožení plemene včely kraňské dále vyplývá mj. též ze současného trendu rozšířit na území ČR chov dalších plemen a populací včel, zejména včely medonosné tmavé (*Apis mellifera mellifera*) a hybridní včely buckfastské. Chov více než jednoho plemene na tak malém území, jako ČR je problematický. Vzhledem k nemožnosti prostorové izolace by došlo ke spontánní hybridizaci a riziku šíření nežádoucích vlastností.

Populace včely kraňské je ohrožena nedovolenými převozy včelích matek, případně včelstev na území chovu kraňské včely z oblastí se zcela odlišným genotypem včel, následným křížením s místní včelou a šířením této populace cestou přirozeného páření nepromyšlenou snahou nahradit za každou cenu ztráty včelstev způsobené nezvládnutím chorob.

Přes cílenou osvětu nelze zcela zabránit individuálním pokusům o importy. Transport včelích matek přes hranice je navíc technicky snadno proveditelný a na hranicích prakticky nekontrolovatelný. Ač nebyly dosud publikovány žádné vědecké práce o prokazatelně lepší odolnosti jiných plemen včel vůči chorobám, snaha o amatérské vyzkoušení odlišných včelích plemen je posilována komerční reklamou a neseriózními články v populárním včelařském tisku a na internetu.

Mezirasová hybridizace tak v Evropě vedla a stále vede k postupné likvidaci místně přizpůsobených ekotypů s jejich přirozenou selekcí po staletí vytvářenými nejvýhodnějšími kombinacemi variant genů a ke vzniku nedefinovatelné mixpopulace. Pokles mezipopulační diverzity vede ke snížení schopnosti včelstev účinně reagovat na stále se zvyšující tlak patogenů, na negativní změny v kvalitě okolního prostředí i na klimatické změny. V souvislosti se zvyšujícími se úhyny včelstev se uchování místně přizpůsobených ekotypů včel a s tím spojené omezení dovozu cizích plemen musí stát nejvyšší prioritou. Je to ostatně i jeden z nejdůležitějších závěrů mezinárodního projektu COLLOSS.

Jednoduchá, levná a technicky snadno proveditelná, standardní metodika stanovení plemenné příslušnosti včely medonosné metodou geometrické morfometrie křídel spolu s jednoznačným určením plemenného standardu kraňky poskytne Uzanému chovatelskému sdružení kraňské včely i chovatelům genetického zdroje kraňské včely (Národní program udržování genetických zdrojů zvířat.....) účinný nástroj k realizaci šlechtitelského programu v rámci plemenitby včely medonosné kraňské.

## 2. Popis metodiky

Metoda analyzuje geneticky podmíněné tvarové změny na křídle včely. Vzorek je digitalizován skenerem a na výsledném bitmapovém obrázku jsou v kartézském souřadnicovém systému přesně zaměřeny předem definované význačné body (landmarky) žilnatiny křídla. Souřadnice landmarků jsou následně upraveny prokrustovskou transformací (otočení, posun, úprava velikosti) tak, aby v souřadnicích zůstala pouze porovnatelná informace o tvaru křídla. Takto upravené souřadnice obrazu křídla jsou následně porovnávány s předem připravenou referenční databází souřadnic vzorků, které byly odebrány v místech přirozeného výskytu čistých populací jednotlivých plemen. Zpracováním vícerozměrnou statistickou analýzou jsou vzorky včel jednotlivých plemen diskriminovány do shluků plemen. Ze vzdáleností analyzovaného vzorku od centroidů shluků jednotlivých plemen jsou pak spočítány aposteriorní pravděpodobnosti, že vzorek patří k danému plemeni. Standardy plemen pak tvoří jednotlivé shluky a aposteriorní pravděpodobnosti vyjadřují míru shody analyzovaného vzorku s těmito standardy.

### 2.1 Velikost vzorku

Klasifikaci lze provést na jediné včele odchycené např. ve volné přírodě nebo také pro jednotlivá včelstva. V tomto případě se doporučuje odebrat 15 – 20 včel.

### 2.2 Odběr vzorku

Vzorky jednotlivých včel odchytáváme z kvetoucích rostlin pomocí odchytné sítě. Včely usmrtíme parami octanu etylnatého a vložíme do papírového tubusu. Až do zpracování jsou vzorky uloženy v mrazničce.

Včely pro analýzu včelstev odebíráme nejlépe z medníku do zasílacích klíček, necháme nejméně půl dne vyhladovět a k usmrcení vložíme do mrazničky.

### 2.3 Příprava vzorku

# T A Č R

Pravá přední křídla určená k analýze jednotlivých včel umístíme na krycí sklíčko a překryjeme dalším krycím sklíčkem, které přilepíme v rozích vteřinovým lepidlem a řádně označíme.

Pravá přední křídla včel z analyzovaných včelstev umístíme postupně na tenkou lepicí pásku a přilepíme na kvalitní transparentní folii. Vzorky opět řádně označíme nesmazatelným fixem.

## 2.4 Digitalizace vzorku

K digitalizaci použijeme kvalitnější stolní skener s hardwarovým rozlišením minimálně 2400 dpi, nejlépe s adaptérem pro skenování diapozitivů. Použijeme barevné skenování o rozlišení obrázků 1200 dpi.

Ke skenování i ořezávání obrázků jednotlivých křídel použijeme software dodaný se skenerem. Vystřižnuté obrázky křídel ukládáme do adresářů pojmenovaných podle jednotlivých křídel nebo včelstev, vše ve formátu bmp.

## 2.5 Snímání souřadnic landmarků

Ke snímání souřadnic landmarků a vytvoření souboru správného formátu použijeme volně dostupné programy tspUtil a tspDig232 ze stránky SB Morphometrics (<http://life.bio.sunysb.edu/morph>).

Nejprve v programu tspUtil vytvoříme v adresáři s křídly soubor s příponou .tsp, do kterého nadefinujeme obrázky křídel z tohoto adresáře. Potom již můžeme tento soubor otevřít v programu tspDig232 a postupně sejmout souřadnice landmarků křídel v pořadí podle vzoru (viz. Příloha obr.1). Hotový soubor uložíme.

## 2.6 Statistické zpracování

Ke statistickému zpracování výsledků použijeme volně dostupný program Past3 (<https://folk.uio.no/ohammer/past/>), program MS Excel a jakýkoliv statistický program umožňující provést diskriminační analýzu s výstupem v podobě tabulky s aposteriorními pravděpodobnostmi (např. volně dostupná Statistica12).

V programu Past3 otevřeme uložený soubor .tsp a tabulku zkopírujeme do schránky. Pak otevřeme předem připravený soubor referenčních vzorků (geom\_ref.xls) a na konec tabulky zkopírujeme schránku s daty analyzovaných vzorků. Dalším krokem je prokrustovská transformace souřadnic a uložení ve formátu .xls, který lze importovat do statistického programu. Pokud určujeme plemennou příslušnost včelstva, pak v programu MS Excel vypočítáme průměry jednotlivých transformovaných souřadnic křídel tohoto včelstva. Tyto průměry pak budou předmětem statistické analýzy. Soubor importujeme do statistického programu a provedeme diskriminační analýzu. Vhodná je dopředná (forward

stepwise) eliminace souřadnic nepřispívajících dostatečně k diskriminaci (F to enter = 10) a nastavení a priori klasifikačních pravděpodobností na stejné pro všechny skupiny (plemena).

## **2.7 Hodnocení výsledků analýzy**

V tabulce aposteriorních pravděpodobností lze nalézt výsledek analyzovaného vzorku pro všechna plemena zahrnutá ve standardech. Nejvyšší hodnota ukazuje na dominantní plemeno. Plemeno považujeme za čisté, pokud je hodnota pravděpodobnosti 0,8 a vyšší. Rozpětí hodnot pravděpodobnosti pro tolerovatelnou příměs dalších plemen je stanoveno na 0,6 - 0,8.

## **3. Prohlášení o poskytovateli dotace na projekt a projektu, v rámci kterého metodika vznikla**

Metodika vznikla s podporou Technické agentury České republiky jako plánovaná publikace výsledků projektu číslo TA04020317 Mapování populace včely medonosné v České republice.

## **4. Zdůvodnění, čím je navrhovaná metodika nová, srovnání novosti postupů oproti původní metodice, v případě, že existuje.**

V České republice dosud nebyla vydána oficiálně platná metodika se stanovením jednoduše interpretovatelného standardu plemen. V dílčích analýzách byly používány časově náročné metody morfometrie některých částí těla, ochlupení, barvy těla a základní znaky křídelní žilnatiny.

V současnosti hraje v morfometrii klíčovou roli analýza křídelní žilnatiny. Z fylogenetického hlediska poskytuje žilnatina křídla více informací ve srovnání s charakteristikami mnohem citlivějšími na vlivy prostředí jako je barva těla, tělní rozměry a ochlupení. Klasická křídelní morfometrie analyzuje křídlo pomocí úhlů, vzdáleností a indexů vypočítaných ze souřadnic křížení jednotlivých křídelních žilek. Metoda DAWINO všechny tyto úhly, vzdálenosti a indexy zahrnuje do výpočtu jako samostatné charakteristiky ve vícerozměrné statistické analýze, kde mohou být kombinovány s ostatními tělními znaky. Pravděpodobnost příslušnosti ke standardním populacím je vypočítána jako aposteriorní pravděpodobnost.

Předkládaná metodika je kombinací klasické křídelní morfometrie a geometrické morfometrie, která je přímou vizualizací tvarových změn na křídle. Prokrustovskou transformací souřadnic landmarků v nich zůstává pouze porovnatelná informace o tvaru a jednotlivé souřadnice pak mohou být přímo proměnnými vícerozměrné statistické analýzy. Není tedy nutný specializovaný software na výpočet úhlů a indexů. Veškerý potřebný software je volně dostupný, včetně nově vytvořené databáze referenčních vzorků.

## 5. Uplatnění metodiky v praxi a ekonomické aspekty

Metodika bude využívána Uznáním chovatelským sdružením kraňské včely a účastníky Národního programu uchování genových zdrojů kraňské včely ke stanovení čistoty plemenných matek, importovaných matek a chovatelských okrsků. V souvislosti s novelou zákona č.154/ 2000 Sb. O šlechtění, plemenitbě a evidenci hospodářských zvířat, která povoluje pouze plemenitbu kraňky, je zde možnost využití metodiky Českou plemenářskou inspekcí ke stanovení plemenné příslušnosti odebraných vzorků.

Metodika představuje levnější postup (400 Kč/vzorek) než molekulární metody (2500 Kč/vzorek). Roční úspora při současném využití podle pravidel Uznáného chovatelského sdružení včely medonosné kraňské při 250 rozborech 500 tis. Kč. Ekonomický přínos je i pro uživatele metodiky, chovatele matek, kteří musí prokázat plemennou příslušnost rozchovávaného plemenného materiálu, což je podmínka pro zařazení chovu do seznamu šlechtitelských chovů, jejichž matky jsou dotovány dle Nařízení vlády č. 197/2005 Sb.

## 6. Seznam použité literatury

- Alpatov, W W (1929) Biometrical studies on variation and races of the honey bee. Quarterly Review of Biology 4: 1-58
- Arias, M C; Rinderer, T E; Sheppard, T S (2006) Further characterization of honey bees from the Iberian Peninsula by allozyme, morphometric and mtDNA haplotype analyses. Journal of Apicultural Research 45(4): 188-196
- Badino, G; Celebrano, G; Manino, A (1983) Population structure and Mdh-1 lokus variation in *Apis mellifera ligustica*. Journal of Heredity 74: 443-446
- Badino, G; Celebrano, G; Manino, A (1985) Enzyme polymorphism in the Sicilian honey bee. Experientia 41: 752-754
- Baylac, M et al (2008) ApiClass- an automatic wing morphometric expert system for honey bee identification (online) [www.apiclass.mnhn.fr](http://www.apiclass.mnhn.fr)
- Bookstein, F L (1991) Morphometric tools for landmark data. Geometry and Biology. Cambridge University Press; New York, USA.



- Buchler, R et al (2014) The influence of genetic origin and its interaction with environmental effects on the survival of *Apis mellifera* colonies in Europe. *Journal of Apicultural Research* 53(2): 205-214
- Canovas, F et al. Geographical patterns of mitochondrial DNA variation in *Apis mellifera iberiensis* (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* 46(1): 24-30
- Cornuet, J M (1982) Mdh polymorphism in some west Mediterranean honey bee population. In *Proceedings of the 9th Congress of the International Union for the Study of Social Insects*, Boulder, Colorado, USA
- De La Rúa, P; Serrano, J; Galian, J (1998) Mitochondrial DNA variability in the Canary Islands honey bees (*Apis mellifera*). *Molecular Ecology* 7(11): 1543-1547
- De La Rúa, P; Serrano, J; Galian, J (2002) Biodiversity of *Apis mellifera* populations from Tenerife (Canary Islands) and introgressive hybridization with East European races. *Biodiversity and Conservation* 11: 59-67
- De La Rúa, P; Jaffe, R; Dallolio, R; Muñoz, I; Serrano, J (2009) Biodiversity, conservation and current threats European honey bees. *Apidologie* 40(3): 263-284
- Dedej, S; Basiolo, A; Piva, R (1996) Morphometric and allozymatic characterization in the Albanian honey bee population (*Apis mellifera*). *Apidologie* 27(3): 121-131
- Del Lama, M A et al. (1990) Genetic differentiation estimated by isozymic analysis of Africanized honey bee population from Brasil and from Central America. *Apidologie* 31: 271-280
- Diniz-Filho, J A F; Hepburn, H R; Radloff, S; Fuchs, S (2000) Spatial analysis of morphological variation in African honey bees (*Apis mellifera* L.) on a continental scale. *Apidologie* 31: 191-204
- DuPraw, E J (1964) Non-Linnean taxonomy. *Nature* 202: 849-852
- DuPraw, E J (1965) Non-Linnean taxonomy and the systematics of honey bees. *Systematic Zoology* 14: 1-24
- Estoup, A; Solignac, M; G, M; Cornuet, J M (1993) Characterization of (GT)<sub>n</sub> and (CT)<sub>n</sub> microsatellites in two insects *Apis mellifera* and *Bombus terrestris*. *Nucleic Acids Research* 21: 1427-1431
- Estoup, A; Solignac, M; Garnery, L; Cornuet, J M (1995) Microsatellite variation in honey bee (*Apis mellifera*) populations: hierarchical genetic structure and test of the infinite allele and stepwise mutation models. *Genetics* 140: 679-695
- Evans, J D et al. (2013) Standard methodologies for molecular research in *Apis mellifera*. *The Colloss beebook*. *Journal of Apicultural Research* 52(4)
- Franck, P; Garnery, L; Solignac, M; G, M; Cornuet, J M (2000) Hybrid origin of honey bees from Italy (*Apis mellifera ligustica*) and Sicily (*Apis mellifera sicula*) *Molecular Ecology* 9: 907-921

- Franck, P; Garnery, L; Loiseau, A (2001) Genetic diversity of the honey bee in Africa: microsatellite and mitochondrial data. *Heredity* 86: 420-430
- Francoy, T M et al. (2006) Morphometric differences in a single wing cell can discriminate *Apis mellifera* racial types. *Apidologie* 37: 91-97
- Garnery, L; Solignac, M; Cornuet, J M (1992) Evolutionary history of the honey bee (*Apis mellifera*) inferred from mitochondrial DNA analysis. *Molecular Ecology* 1: 145-154
- Garnery, L et al. (1998) Genetic biodiversity of the West European honey bee (*Apis mellifera mellifera* and *Apis mellifera iberica*):II. Microsatellite loci. *Genetics Selection Evolution* 30: 49-74
- Garstide, D F (1980) Similar allozyme polymorphism in honey bees (*Apis mellifera*) from different continents. *Experientia* 36: 649-650
- Gerula, D; Tofilski, A; Wegrzynowicz, P; Skowronek, W (2009) Computer- assisted discrimination of honey bee subspecies used for breeding in Poland. *Journal of Apicultural Science* 53(2): 105-114
- Jensen, A B et al. (2005) Varying degrees of *Apis mellifera ligustica* introgression in protected population of the black honey bee, *Apis mellifera mellifera*, in northwest Europe. *Molecular Ecology* 14: 93-106
- Jombart, T (2008) Adegnet: R package for the multivariate analysis for genetic markers. *Bioinformatics* 24: 1403-1405
- Kandemir, I; Kence, A (1995) Allozyme variation in a central Anatolian honey bee (*Apis mellifera*) population. *Apidologie* 26: 503-510
- Kandemir, I; Ozkan, A; Fuchs, S (2011) Reevaluation of honey bee (*Apis mellifera*) microtaxonomy: a geometric morphometric approach. *Apidologie* 42: 618-627
- Klingenberg, C P (2011) MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources* 11: 353-357
- Macholan, M; (1999) Prokrustes, deforma a nová morfomerie. *Vesmír* 1:35-39
- Meixner, M D; Sheppard, W S; Dietz, A; Krell, R (1994) Morphological and allozyme variability in honey bees from Kenya. *Apidologie* 25: 188-202
- Meixner, M D; Costa, C; Kryger, P; Hatjina, F; Bouga, M; Ivanova, E; Buchler, R (2010) Conserving diversity and vitality for honeybee breeding. *Journal of Apicultural Research* 49(1): 85-92
- Mendes, M F M et al. (2007) Intra- populational variability of *Nannotrigona testaceicornis* (Hymenoptera, Meliponini) using relative warp analysis. *Bioscience Journal* 23: 147-152
- Miguel, I et al (2010) Both geometric morphometry and microsatellite data consistently support the differentiation of the *Apis mellifera* M evolutionary branch. *Apidologie* 42: 150-161
- Oleksa, A; Tofilski, A (2014) Wing geometric morphometrics and microsatellite analysis provide similar discrimination of honey bee subspecies. *Apidologie online*

- Pritchard, J K; Stephens, M; Donnelly, P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-959
- Rohlf, F J (1990) NTSYS-pc, Numerical taxonomy and multivariate analysis systém. Exeter Software, New York, USA
- Rohlf, F J; (2001) TSPdig: digitize landmarks from image files, scanner or video. Department of Evolutionary Biology, University of New York; Stony Brook, NY, USA.
- Ruttner, F; Tassencourt, L; Louveaux, J (1978) Biometrical- statistical analysis of the geographic variability of *Apis mellifera* L. *Apidologie* 9: 363-381
- Sheppard, W S; Berlocher, S H (1984) Enzyme polymorphism in *Apis mellifera* from Norway. *Journal of Apicultural Research* 23: 64-69
- Sheppard, W S; Berlocher, S H (1985) New allozyme variability in Italian honey bees. *Journal of Heredity* 76: 45-48
- Sheppard, W S; McPherson, B A; (1986) Genetic variation in honey bees from an area of racial hybridization in western Czechoslovakia. *Apidologie* 17: 21-32
- Slice, D E (2002) Morphueus, for morphometric research software. Department of Biomedical Engineering, Wake Forest University School of medicine; Winston, Salem, USA
- Smith, D R; Brown, W M (1988) Polymorphism i mitochondrial DNA of European and Africanized honey bees (*Apis mellifera*). *Experientia* 44: 257-260
- Soland- Reckeweg, G; Heckel, G; Neumann, P; Fluri, P; Excoffier, L (2009) Gen flow in admixed populations and implications for the conservation of the Western honey bee, *Apis mellifera*. *Journal of Insect Conservation* 13: 317-328
- Solignac, M et al. (2003) Five hundred and fifty microsatellite markers for the study of the honey bee (*Apis mellifera*) genome. *Molecular Ecology Notes* 3: 307- 311
- Spotter, A; Gupta, P; Nurnberg, G; Reinsch, N; Bienefeld, K (2012) Development of 44k SNP assay focussing on the analysis of a varroa- specific defence behaviour in honey bees (*Apis mellifera carnica*). *Molecular Ecology Resources* 12: 223-332
- Tofilski, A (2004) Draw Wing, a program for numerical description of insect wings. *Journal of Insect Science* 4: 1-5
- Tofilski, A (2008) Using geometric morphometrics and standard morphometry to discriminate three honey bee subspecies. *Apidologie* 39: 558-563
- Veselý a kol. (2002) Včelařství
- Whitfield, C W et al. (2006) Thrice out of Africa: ancient and recent expansions of the honey bee (*Apis mellifera*). *Science* 314: 642-645
- Zayed, A; Whitfield, C W (2008) A genome – wide signature of positive selection in ancient and recent invasive expansions of the honey bee (*Apis mellifera*). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105: 3421- 3426

## **7. Seznam publikací, které předcházely metodice a byly publikovány**

V průběhu projektu byly publikovány tyto tituly:

Machovič, V et al (2017) Analysis of european honeybee (*Apis mellifera*) wings using ATR-FTIR and raman spectroscopy. *Scientia Agriculturae Bohemica* 48: 22-28

Kašpar, F et al. (2017) Jaké včely chováme v České republice, *Včelařství* 70: 60-61

Touto metodikou byly získány výsledky uvedené zde: <http://arcg.is/bKLWj>

### **Příloha**

Obr.1 Landmarky a pořadí při snímání souřadnic

**T A**  
**Č R**

