

А.А. Шевцова¹, З.Г. Кокаева¹, А.В. Королёв², В.И. Масленникова², Е.А. Климов¹

ПРИМЕНЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ ПАТОГЕННЫХ ВИРУСОВ МЕДОНОСНОЙ ПЧЕЛЫ НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

¹Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, биологический факультет, Российская Федерация, 119234, г. Москва, ул. Ленинские горы, 1-12

²ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К. И. Скрябина»,

Российская Федерация, 109472, Москва, ул. Академика Скрябина, 23

e-mail: anna-lunkova@mail.ru

В последнее время по всему миру, в том числе и в России, регистрируют бессимптомную массовую гибель пчелиных семей. По предварительным подсчетам, показатель смертности семей на пасеках Российской Федерации варьирует от 28 до 100% и в среднем составляет 72%. Причиной данного явления называют зараженность пчелиных семей одним или несколькими патогенными вирусами пчел. Вирусные заболевания приводят к серьезным случаям, вплоть до утраты всей колонии пчел. 7 вирусов вызывают наиболее тяжелые последствия для здоровья пчел (ABPV, IAPV, KBV, BQCV, SBV, CBPV и DWV). В настоящий момент первостепенной задачей является оценка вирусоносительства в пчелиных семьях европейской части России с использованием молекулярно-генетических маркеров и анализ полиморфизма фрагментов геномов вирусов.

В качестве биологической единицы принята пчелиная семья, а не отдельная особь. Поэтому сбор проводился по семьям, собирали в среднем 50±10 особей из семьи. В ходе исследования было собрано и проанализировано 419 пчелиных семей карпатской породы из различных регионов европейской части России: Архангельской, Белгородской, Владимирской, Воронежской, Московской, Пензенской, Ростовской, Рязанской, Тверской и Краснодарского края. Пчелиные семьи транспортировали в лабораторию живыми в отдельных одноразовых пластиковых контейнерах и затем замораживали при температуре –30 °С. Из каждой семьи брали 30 особей и растирали на холоду. 100мг гомогената использовали для выделения тотальной РНК реагентом Extract RNA (ЗАО «Евроген», Россия), остальное замораживали. кДНК получали с использованием набора MMLV RT (ЗАО «Евроген», Россия). ПЦР проводили с подобранными нами праймерами к 6 типам вирусов, использовали набор ScreenMix-HS (ЗАО «Евроген», Россия). Продукты ПЦР разделяли в 2% агарозном геле.

По результатам исследований выявлено носительство пчелами патогенных вирусов ABPV, BQCV, SBV, DWV, IAPV и KBV на обследованных пасеках и составлена карта распространенности вирусов на европейской территории Российской Федерации. Частота встречаемости патогенных вирусов в пчелиных семьях исследованных регионов очень для ABPV – 100%, BQCV – 100%, DWV – 95,8%, SBV – 55,2%. Более низкая нагрузка показана для KBV – 37,5% и IAPV – 4,2%. Выявлено совместное носительство нескольких вирусов (коинфекция). Проведено секвенирование гена RdRp вирусов ABPV, BQCV, SBV, DWV, IAPV и KBV. Полученные последовательности сопоставлены с существующими в базах данных последовательностями из других регионов мира. Выявлены консервативные участки последовательности гена RdRp вирусов ABPV, BQCV, SBV, DWV, IAPV и KBV. Описано родство вирусов из разных регионов мира по нуклеотидным последовательностям гена RdRp.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-34-90165