

УГРОЗЫ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ У ПЧЕЛ (*Apis mellifera* L.) И РОЛЬ КЛЕЩА *Varroa destructor* В РАЗВИТИИ ПАТОЛОГИЙ

(обзор)

А.В. СПРЫГИН¹, Ю.Ю. БАБИН¹, Е.М. ХАНБЕКОВА², Л.Е. РУБЦОВА²

Вирусные инфекции представляют серьезную проблему в современном пчеловодстве, приводя к депопуляции пчелиных семей. К настоящему времени у медоносной пчелы *Apis mellifera* обнаружено около 20 РНК-содержащих вирусов, которые в основном относятся к семействам *Dicistroviridae*, *Iflaviridae*, *Nodaviridae* (О.Ф. Гробов с соавт., 2006; С. Runckel с соавт., 2011). Имеются и ДНК-содержащие вирусы: иридовирус (сем. *Iridoviridae*), который потенциально может вызывать гибель пчелиных семей (J.J. Bromenshenk с соавт., 2010), вирус летального паралича тли (*Aphid Lethal Paralysis virus*, сем. *Dicistroviridae*), вирус большой реки Сиу (*Big Sioux River virus*, сем. *Dicistroviridae*), вирус озера Синай 1 и 2 (*Lake Sinai Virus strain 1 и 2*, сем. *Nodaviridae*) (С. Runckel с соавт., 2011). Однако их роль в гибели пчел еще предстоит изучить. Среди известных вирусов пчел наиболее распространены следующие: вирус деформации крыла (deformed wing virus, DWV), вирус острого паралича (acute bee paralysis virus, ABPV), вирус хронического паралича (chronic bee paralysis virus, CBPV), вирус мешотчатого расплода (sacbrood virus, SBV), вирус черных маточников (black queen cell virus, BQCV) и вирус Кашмира (Kashmir bee virus, KBV). Вирусы могут персистировать в организме медоносной пчелы (*Apis mellifera* L.) и не вызывать клинических признаков, однако при инфестации пчелиной семьи клещом *Varroa destructor*, который выполняет роль «проводника» основных вирусных инфекций (D. Tentcheva с соавт., 2004), вирусы становятся высоковирулентными, приводя к гибели отдельных особей или даже целых семей. Паразитирование *V. destructor* ранее было ограничено видом азиатской пчелы *Apis cerana*, при этом оба вида (*V. destructor* и *A. cerana*) находятся в экологическом равновесии. Однако после интродукции *A. cerana* в ареал *A. mellifera* клещ *V. destructor* начал паразитировать на последней (Р.С. Полторжницкая, 2008) и сейчас представляет угрозу популяциям *A. mellifera* во всем мире. Зарегистрированные за последнее время массовые случаи гибели медоносных пчел, получившие в мировой литературе название «коллапс пчелиных семей» (D. van Engelsdorp с соавт., 2008; R.M. Johnson с соавт., 2009; F. Nazzi с соавт., 2012), связаны со способностью клеща *Varroa* ослаблять их иммунитет, нарушать метаболизм и активировать латентные вирусные инфекции. Вирусы, попадая в организм пчел алиментарно, в большинстве случаев не приводят к летальному исходу, тогда как при векторной передаче (через укус клеща *V. destructor*) вызывают массовую гибель пчел в течение короткого времени. Клещ варроа — облигатный эктопаразит *A. mellifera* на всех стадиях развития пчелы, поэтому сдерживание заклещеванности служит залогом благополучия пчелосемей. В представленном обзоре рассматривается роль клеща *Varroa* в трансмиссии вирусов деформации крыла (DWV), острого паралича (ABPV), хронического паралича (CBPV), мешотчатого расплода (SBV), черных маточников (BQCV), кашмирского вируса (KBV), а также их распространение в мире и влияние на жизнедеятельность пчелиных семей. Также затронуты вопросы профилактики вирусных инфекций у пчел. Комплексный подход с применением современных методов борьбы с клещом (А.А. Fedotova с соавт., 2011), селекция пород пчел *A. mellifera*, устойчивых к клещу, а также обработка пчел против вирусных инфекций позволят в будущем обеспечить стабильное развитие пчелиных семей.

Ключевые слова: *Apis mellifera*, *Varroa destructor*, вирусы, пути передачи вирусной инфекции, векторы.

К настоящему времени у медоносной пчелы *Apis mellifera* обнаружено около 20 РНК-содержащих вирусов, которые, в основном, относятся к семействам *Dicistroviridae*, *Iflaviridae*, *Nodaviridae* (1-3). Имеются и ДНК-содержащие вирусы: иридовирус (сем. *Iridoviridae*), который потенциально может вызывать гибель пчелиных семей (4), вирус летального паралича тли (*Aphid Lethal Paralysis virus*, сем. *Dicistroviridae*), вирус большой реки Сиу (*Big Sioux River virus*, сем. *Dicistroviridae*), вирус озера Синай 1 и 2 (*Lake Sinai Virus strain 1 и 2*, сем. *Nodaviridae*) (2). Однако их роль в гибели пчел еще предстоит изучить.

Как правило, активная репликация большинства вирусов в клетках насекомого приводит к патологии развития, негативно сказывается на физиологических и поведенческих особенностях пчел вплоть до гибели целой семьи (5-8). Часто вирусы пчел могут существовать в скрытой (латентной) форме у отдельных особей или у всей пчелиной семьи, не вызывая гибели (9-11). Важно отметить, что при влиянии определенных (но не установленных до конца факторов) некоторые вирусы могут провоцировать ухудшение адаптации пчел к холоду, сокращение яйцекладки маткой, летной активности и снижение сбора нектара (12).

Не вызывает сомнений, что вирусные инфекции представляют серьезную угрозу для выживания пчел, особенно при заражении клещом *Varroa destructor*, который выполняет роль «проводника» основных вирусных инфекций (10). Векторный способ переноса вирусов подразумевает передачу инфекционного агента через укус биологическим агентом — клещом, зараженным вирусом. Клещ варроа — облигатный эктопаразит *A. mellifera* на всех стадиях развития пчелы. Ранее он ограничивался паразитированием на азиатском виде *A. cerana*, но впоследствии перешел на *A. mellifera* в ее естественных ареалах (13, 14).

Между *A. cerana* и *V. destructor* существует экологическое равновесие, при котором клещ, паразитируя на *A. cerana*, не вызывает гибели последней, что обусловлено рядом причин. Во-первых, клещ не способен размножаться в ячейках с рабочими пчелами *A. cerana* (15, 16), и его цикл развития ограничен трутневыми ячейками. Во-вторых, усиленный груминг имаго у *A. cerana* приводит к эффективной очистке от клеща (16). В-третьих, при высокой интенсивности заражения трутневой куколки происходит значительное ослабление развивающегося насекомого, которое впоследствии не способно разорвать кокон и погибает, а пчелы затем игнорируют эти соты (17, 18). Таким образом ликвидируется около 25 % популяции клеща внутри семьи.

Однако паразитирование клеща на *A. mellifera*, не обладающей аналогичными защитными механизмами, за исключением менее эффективного груминга, приводит к снижению иммунитета, массы, к нарушению водного и углеводного обмена, сокращению продолжительности жизни. В результате этого жизнеспособность пчел снижается, и колония может погибнуть либо слететь (19-23).

До интродукции клеща *Varroa* в популяцию *A. mellifera* вирусам пчел не придавали большого значения (21). Но уже первые исследования, выполненные с использованием молекулярных методов диагностики на основе RT-PCR (полимеразная цепная реакция в режиме реального времени) выявили чрезвычайно высокую (в некоторых семьях более 90 %) инфицированности пчел вирусами. Необходимо отметить, что в сильно заклещеванной пчелиной семье могут одновременно присутствовать до пяти-шести видов вирусов разной таксономической принадлежности (29). В зарубежной литературе был введен термин «синдром медоносных пчел, вызванный клещом-паразитом *Varroa*» («bee parasitic mite syndrome»), который используется для описания патологических признаков у заклещеванных пчел, зараженных вирусами (25). Экспериментально показано, что инокуляция вирусных частиц в гемолимфу пчелы и подавление иммунного ответа клещом *Varroa* снижает защитные силы как одной пчелы, так и всей семьи, активируя латентные вирусные инфекции (26).

Из обнаруженных вирусов у медоносной пчелы к настоящему времени наибольшее значение имеют вирус деформации крыла (deformed wing virus, DWV), вирус острого паралича (acute bee paralysis virus, ABPV),

вирус хронического паралича (chronic bee paralysis virus, CBPV), кашмирский вирус (Kashmir bee virus, KBV), вирус мешотчатого расплода (sacbrood virus, SBV), вирус черных маточников (black queen cell virus, BQCV).

Вирус деформации крыла. Вирус деформации крыла (DWV) относится к сем. *Iflaviridae*, распространен повсеместно (27, 28), включая пчел в Российской Федерации (29, 30) и Азербайджане (31). Генетически близок к *Kakugo virus*, обнаруженному у агрессивных пчел в Японии (32, 33). РНК *Kakugo virus* и DWV гомологичны на 97-98 % (32). Основным хозяином вируса деформации крыла, распространившегося благодаря клещу *V. destructor*, в настоящее время считается медоносная пчела *A. mellifera* (10, 34). Он найден также у *A. cerana*, карликовой пчелы *A. florea* (35, 36) и у шмелей (*Bombus terrestris*, *B. pascuorum*) с деформированными крыльями (3). DWV был обнаружен у клещей *V. destructor* (21, 37-39) и *Tropilaelaps mercedesae* (40, 41) — эктопаразитов медоносных пчел. Оба клеща — векторы вируса, особенно *V. destructor*, который играет важную роль в трансмиссии DWV (21, 26, 42, 43).

DWV также может инфицировать малого ульевого жука (*Aethina tumida*), поддерживающего репликацию вируса. Установлено, что пчела *A. mellifera* способна передавать вирус деформации крыла жуку *A. tumida* (44), а также шмелям (28). При отсутствии у пчелы клеща *V. destructor* DWV авирулентен. Находясь в организме пчелы в латентном состоянии, он не вызывает клинических признаков (21, 45-47). DWV может передаваться трансвариально через сперму трутней и между семьями пчел при роении (45, 48).

К классическими симптомами DWV при высокой заклещеванности относятся рудиментарные и смятые крылья, раздутое брюшко, измененная окраска. Такие пчелы нежизнеспособны и погибают в течение 67 ч после выхода из ячеек, что приводит к ослаблению пчелосемей (25, 49, 50). Тот факт, что клещ *V. destructor* служит вектором вируса деформации крыла, убедительно показан экспериментальными исследованиями (21, 51). Недавние исследования показали, что появление репликативной формы DWV у клеща (РНК с отрицательной полярностью) приводит к развитию клинических признаков поражения вирусом деформации крыла на стадии куколки. В случае гибели пчелы, зараженной DWV, число вирусных частиц в сидящем на ее теле клеще может достигать 10^{10} - 10^{12} . Поэтому признак деформированных крыльев у пчел зависит не только от трансмиссии DWV через клеща, но также от репликации и накопления самого вируса в теле последнего (43). При изучении вопроса о локализации вируса DWV в клеще выяснили, что он присутствует только в просвете кишечника, однако доказательств его репликации нет. Возможно, у большинства клещей в популяции вирус DWV репликативно неактивен. Для выяснения этого вопроса необходимо изучить клещей из тех пчелосемей, где выводятся пчелы с деформированными крыльями.

В Европе в зависимости от сезона до 100 % пчелиных семей могут быть инфицированы вирусом деформации крыла (10, 52). Показано, что совместное присутствие DWV и *V. destructor* в пчелосемье перед зимовкой с высокой вероятностью может вызывать гибель семей в зимний период (53-55). Без клещевой инвазии присутствие DWV бессимптомно (45), но при появлении клеща вирус активируется, вызывая гибель пчел. До появления *V. destructor* в Европе в 1970-1980-х годах внешних признаков заражения вирусом деформации крыла не отмечали (36). Однако сейчас DWV считается одной из главных причин коллапса пчелиных семей, зараженных клещом.

Инфицированность DWV всегда связана с присутствием *V. destructor* как его переносчиком (22, 37, 51). В Таиланде и во Франции изучение клещей на наличие DWV показало, что вирус может постоянно присутствовать во всех особях (10, 56). Исследования выявили наличие вируса DWV у 69 % и 90 % заклещеванных пчел соответственно в Польше и Англии (57).

Статистически доказано, что заклещеванность пчел *V. destructor* летом приводит к появлению DWV осенью. В 4-летнем исследовании 1250 пчелиных семей в Германии была выявлена прямая связь между их гибелью во время зимовки, степенью заклещеванности *Varroa* и высоким содержанием DWV в организме пчел (47, 58, 59).

Установлено, что DWV, помимо медоносной пчелы, поражает диких пчел *A. florea* и *A. dorsata* (60). Предполагается, что DWV и вирус клеща *Varroa destructor virus-1* (VDV-1) могут вызывать дегенерацию яичников у маток (61). Матки, откладывая яйца, зараженные DWV, передают вирус потомству, что приводит к бессимптомному носительству (45, 62). DWV может быть обнаружен в фекалиях маток (63). Результаты выполненных исследований (64) согласуются с данными других авторов, которые обнаруживали DWV в фекалиях рабочих пчел (65).

Для клеща варроа характерно носительство не только вируса деформации крыла, но и сходного вируса VDV-1 (66), РНК которого на 84 % идентична РНК DWV (66, 67). Более того, между этими двумя вирусами возможна рекомбинация (68). Такие рекомбинантные вирусы, например VDV-1_{DVD}, лучше приспособлены к горизонтальному переносу (при укусе клеща) и эффективнее избегают иммунного контроля со стороны хозяина, то есть пчелы. Они также способны накапливаться в теле пчелы в больших количествах, чем исходные родительские, что, возможно, свидетельствует об их высокой вирулентности для пчел (68).

Вирус острого паралича. ABPV генетически родственен кашмирскому вирусу (KBV) и вирусу израильского паралича (IBPV) из сем. *Dicistroviridae* (69, 70). ABPV может инфицировать как расплод, так и рабочих пчел. В естественных условиях вирус, как правило, присутствует в организме пчел без клинического проявления, не вызывая их гибели (8). Распространение ABPV предположительно происходит через слюну пчел во время кормления личинок и складирования перги. При высокой дозе заражения личинки, как правило, погибают до запечатывания, но если выживают, то без проявления клинической картины болезни у взрослых особей.

Обнаружение ABPV в организме клещей *Varroa* подтверждает их участие в трансмиссии и распространении вируса (9, 10, 56). Помимо выполнения роли переносчика, клещ способен активировать латентные инфекции, вызванные ABPV. Выявление значительного накопления вируса у погибших пчел с признаками паралича и высокой заклещеванностью свидетельствует о том, что клещ варроа может активировать репликацию вируса настолько, что это вызывает гибель пчелы (71). Важно отметить, что при экспериментальном введении фосфатного буфера в гемолимфу пчел тоже происходит активация репликации ABPV, следовательно, латентный ABPV может активироваться не только клещом варроа, но и другими факторами (72).

Предполагается, что ABPV вместе с клещом варроа стал причиной массовой гибели пчелиных семей в Европе (9, 73). Вирус острого паралича пчел — второй наиболее распространенный в Австрии (52). В течение длительного времени ABPV обнаруживался у внешне здоровых пчел в Британии никогда не вызывая их гибели (35). ABPV найден у пчел во

Франции, Италии, Канаде, Китае, США (72) и Новой Зеландии. В настоящее время распространение АВРВ по миру происходит при расширении ареала *A. mellifera* (35, 36).

После занесения *V. destructor* в Европу АВРВ стал обнаруживаться с высокой интенсивностью заражения в сильно заклещеванных семьях, где регистрировался погибший запечатанный и незапечатанный расплод. Впервые на эту проблему обратили внимание в России и Германии в конце 1970-х—начале 1980-х годов (74). Затем аналогичные сообщения были опубликованы учеными из Нидерландов, Италии, бывшей Югославии, Франции (71), Венгрии, Австрии (52), Дании (37) и США (72). В Германии и Голландии частота выявления АВРВ у мертвых пчел в семьях со слабой, средней и высокой степенью заклещеванности составляла соответственно 3; 44 и 80 %. Интересно, что в Англии АВРВ не обнаружили в семьях, свободных от клеща.

Во Франции АВРВ были инфицированы 58 % взрослых пчел, 23 % куколок и внешне здоровых пчел, а у клеща *Varroa* этот показатель составил 36 %. Инфицирование пчел вирусом чаще наблюдалось в заклещеванных семьях в конце лета и осенью, что коррелировало с пиком роста популяции клеща *Varroa* (10). Исследования на пасеках в Дании (75) показали заражение 14 % пчелосемей, что отличается от данных по Франции и Австрии (58 % у клинически здоровых и 68 % — у больных пчел) (52). Датские ученые предполагают, что такие результаты могут объясняться тем, что в борьбе с клещом используются органические кислоты. Они менее эффективны против варрооза, и пчелам приходится бороться с большей заклещеванностью, что приводит к естественной убыли особей, зараженных вирусом. В 2004 году в Дании АВРВ был выявлен с экстенсивностью 73 %, а в 2005 — 80 % (76). Эти исследования позволили найти взаимосвязь между инфицированностью, заклещеванностью и гибелью семей зимой. Статистически значимая зависимость между частотой выявления АВРВ перед зимовкой и гибелью семей зимой была показана для сезонов 2005-2006, но не 2004-2005 годов. Однако степень заклещеванности и гибель семей зимой коррелировали в обоих случаях. Можно предположить, что клещ *Varroa* способен передавать и активировать латентный АВРВ, что служит одним из факторов гибели пчелосемей в период зимовки (76).

Кашмирский вирус и вирус израильского паралича. KBV впервые был описан в 1977 году у *A. cerana* (77). Это РНК-содержащий вирус, который при инокуляции в гемолимфу *A. mellifera* накапливается в высоких титрах (78). Инфицированные пчелы погибают в течение 6 сут при непосредственном попадании KBV в гемолимфу, но остаются внешне здоровыми при его скармливании (78). Очевидно, что летальность KBV зависит от пути передачи (78, 79). При этом ключевую роль в трансмиссии играет клещ *Varroa*. Впервые KBV выделен из гомогената рабочих особей *A. mellifera*, экспериментально зараженных экстрактом *A. cerana* из Кашмира (Индия) (78). Очень интересен факт выявления KBV в популяции медоносных пчел *A. mellifera* в Австралии, поскольку *A. cerana*, которая, по-видимому, выполняет роль главного хозяина KBV, на этом континенте отсутствует. Затем KBV был выявлен у *A. mellifera* из Канады и Новой Зеландии (80), на острове Фиджи (81), США (49), Европе и Океании (35, 36, 82). В настоящее время KBV регистрируется у *A. cerana* (35, 77, 78), *A. mellifera*, шмелей (*B. terrestris*, *B. pascuorum*) и ос (*Vespa germanica*). В Северной Америке и Новой Зеландии в популяции медоносной пчелы инфицирование кашмирским вирусом превалирует над зараженностью другими вирусами (72, 83, 84), но в Европе этот

вирус обнаруживается редко (10, 52, 82, 85).

Вирус поражает пчел на всех стадиях жизненного цикла и обычно сохраняется в расплоде латентно.

Еще один опасный вирус, близкородственный KBV, — вирус израильского паралича, который был обнаружен в Израиле после инокуляции здоровой личинке пчелы гомогената от мертвой пчелы (86). Поскольку симптомы оказались схожими с описанными при заражении вирусом острого паралича, этот патоген был назван вирусом израильского паралича пчел (*Israeli acute bee paralysis virus*, IAPV). Вирус широко распространен на Ближнем Востоке (86), в Австралии, США (87-89) и редко обнаруживается в Европе (90).

KBV и IAPV близкородственны и принадлежат к семейству *Dicistroviridae*. Вместе с ABPV они формируют общий генетический комплекс со сходными путями передачи. Латентно присутствуя у пчелы на стадии личинки, они вызывают быструю гибель взрослой особи с характерными клиническими признаками. Генетический анализ KBV и ABPV показал наличие около 70 % генетической гомологии, однако между ними имеются и различия (91).

ABPV, KBV и IAPV в низких титрах могут постоянно присутствовать у пчел без развития клинических признаков (72, 89). Когда количество KBV и IAPV достигает предельных значений, происходит гибель зараженных пчел (77, 86, 88). Повышение титра вирусов в гемолимфе пчелы при естественном заражении связано с клещом *Varroa*, который служит вектором и одновременно активатором их репликации (49, 92, 93).

Изучение путей передачи KBV и IAPV (42, 51, 94) показало важную роль *V. destructor* в проявлении патогенности KBV, однако точные механизмы патологии остаются неизученными (42). Существует мнение, что *V. destructor* подавляет иммунную защиту пчел, приводя к активации постоянно присутствующих в организме пчелы вирусов (19). Другие исследователи считают, что *V. destructor* служит вектором, который напрямую переносит KBV куколкам, поскольку KBV был найден в слюне клеща (42). Более того, заражение клеща и передача KBV расплоду доказана экспериментально (95). Установлена эффективность передачи KBV расплоду через *V. destructor*, которая составила 70 % (эффективность переноса вируса от клеща к клещу или заражения клеща от расплода 51 %). KBV играет ключевую роль в гибели заклещеванных семей (72, 77). Вирулентность IAPV также, по-видимому, связана с *V. destructor*. Присутствие IAPV является маркером так называемого коллапса пчелиных семей в США, который характеризуется следующими признаками: мертвые пчелы на дне улья или рядом с ним отсутствуют, пчелы оставляют расплод и матку, при достаточном количестве кормов масса рабочих пчел в улье критически снижается (96). Важно отметить, что IAPV распространен и в Австралии, но при этом коллапса пчелиных семей там не наблюдалось. Изучение коллапса семей в США (97) и гибели семей во время зимовки без признаков коллапса в Германии (76) выявило сложную зависимость между представителями комплекса ABPV-KBV-IAPV и *V. destructor*, причем активатором латентных инфекций выступает именно клещ. Перечисленные три вируса имеют разное географическое распространение (98), и этим объясняется, почему IAPV или KBV могут вызывать гибель семей в США, а ABPV — в Европе.

Известно (пока только для одного из этих вирусов), что IAPV может интегрироваться в геном пчелы. Так, геном около 30 % живых пчел в Израиле имеет в своем составе встроенную частичную последовательность

генома IAPV (86). Последовательность генома IAPV также выявлена в составе генома клеща *Varroa*. Более того, пчелы с интегрированным геномом IAPV приобретают устойчивость к заражению этим вирусом (86).

Вирус черного маточника. BQCV впервые выделили из почерневших личинок и предкуколок пчел, ячейки которых также были черными (78). BQCV поражает в основном личинок и куколок маток медоносных пчел в запечатанных ячейках. Пораженные личинки имеют бледно-желтый цвет и покрыты плотной кожей в виде мешочка, что характерно для мешотчатого расплода. Размножение BQCV в куколках маток вызывает их почернение и быструю гибель. Затем чернеет и сам маточник. Рабочие пчелы также могут заразиться, однако у них инфекция внешне не проявляется. Более того, BQCV не реплицируется в пчелах при алиментарном заражении.

Вирус черного маточника зарегистрирован в Северной Америке, Европе, Океании, Азии, Африке, Ближнем Востоке и Азербайджане (31, 35, 36). По результатам 5-летних исследований в городе Белтсвилль (MD, США) установлено, что BQCV — второй из наиболее распространенных вирусов медоносных пчел после вируса деформации крыла DWV (27). В Австралии BQCV — наиболее частая причина гибели маток во время развития.

В результате исследований взрослых пчел и куколок (10) установлено, что BQCV распространен у взрослых особей и чаще наблюдается в весенний и летний периоды.

Существует взаимосвязь между зараженностью пчел вирусом черного маточника и инфицированностью микроспорицией *Nosema apis*: при широком распространении *N. apis* возрастает частота выявления BQCV на той же территории. Репликация вируса в пчелах, зараженных *N. apis*, происходит намного быстрее, чем в незараженных.

Предполагается, что BQCV передается матке во время скармливания ей маточного молочка пчелой-кормилицей. *N. apis* поражает кишечник, создавая условия для инфицирования BQCV. Во всех частях Англии и Уэльса рабочие пчелы, зараженные BQCV, были одновременно коинфицированы *N. apis* (8). На пасеках в Австрии *N. apis* обнаружили в 78 % образцов, положительных по BQCV; у 75 % инфицированных *N. apis* пчелиных семей был выявлен BQCV. Аналогичные результаты получили во Франции (10).

Было высказано предположение, что клещ варроа может служить вектором для BQCV. Обнаружение BQCV в теле клеща на пасеках в Таиланде подтверждает эту гипотезу (56), в то же время в других исследованиях (10) этот вирус в клеще варроа не был выявлен.

Вирус хронического паралича пчел. Ранее трахейный клещ *Acarapis woodi* считался причиной паралича у пчел, однако в конце 1960-х годов было установлено, что у взрослых пчел паралич имеет вирусную этиологию, и впоследствии каузальный агент получил название вируса хронического паралича — CBPV. В настоящее время CBPV выявлен у рабочих пчел практически повсеместно, за исключением Южной Америки (35, 36). Вирус хронического паралича при низкой интенсивности часто обнаруживается у внешне здоровых пчел вместе с ABPV. По сравнению с ABPV вирус хронического паралича менее вирулентен: при инфицировании CBPV требуется несколько суток, чтобы вызвать гибель пчелы, а в случае ABPV это происходит за одни сутки.

Заражение вирусом хронического паралича пчел сопровождается, как правило, симптомами двух типов. Наиболее выраженные — дрожание тельца и крыльев, ползание по земле из-за неспособности летать,

раздутое брюшко и расставленные крылья. Еще одна форма — отсутствие ворсинок и почернение тельца. Таких особей пчелы изгоняют из улья. Обе формы симптомов могут наблюдаться в одной и той же пчелосемье.

Для оценки инфекционных свойств вируса хронического паралича в гемолимфу пчел вводили вирусный препарат, наносили его на поверхность тела пчелы или добавляли в корм. Было установлено, что СВРV легко проникает через кутикулу насекомых при отсутствии ворсинок, однако в случае перорального заражения репликация вируса в организме пчелы минимальна и не приводит к смерти. Облегчает проникновение вируса через кутикулу теснота в улье при несвоевременном расширении гнезд. Заражение этим вирусом происходит при наличии двух факторов. Первый — плохие погодные условия, при которых пчелы не вылетают из улья. Этим объясняют более высокую распространенность вируса хронического паралича во Франции (99). Второй фактор связан с используемыми технологиями пчеловодства. Так, увеличение площади посева подсолнечника во Франции и, как результат, обильный монофлерный взят, привел к быстрому уменьшению внутриульевого пространства, которое не было своевременно расширено, в результате чего произошла гибель семей с типичными признаками хронического паралича (100). Распространение СВРV в мире неравномерно. В Британии он встречается очень часто и вызывает гибель пчелосемей (8), в Австрии его обнаружили только у 10 % пчелосемей (52), во Франции СВРV распространен не более чем у 4 % семей. Важно отметить, что для СВРV не характерна сезонная динамика (10). Наиболее вероятно распространение СВРV посредством проникновения через кутикулу. В Таиланде и во Франции проводилось обследование пчел и клещей *Varroa* на наличие вируса СВРV, при этом пчелы были инфицированы, но клещи оказались свободными от вируса (27). Еще в одном исследовании, выполненном во Франции, СВРV обнаружили у муравьев (*Camponotus vagus* и *Formica rufa*) и клеща *V. destructor*, причем репликативно активную РНК-цепь выявили у *C. vagus* и *V. destructor*, что доказывает роль последнего как биологического вектора СВРV. Обнаружение СВРV у *C. vagus* предполагает возможность его распространения через муравьев, однако прямых доказательств этому нет. Муравьи могут заражаться, поедая инфицированных вирусом пчел, а также пчелы и муравьи могут заражаться, поедая падь зеленой пихтовой тли *Cinara pectinatae*. Однако у тли СВРV к настоящему времени не обнаружили. Следовательно, существуют не изученные пока резервуары СВРV, которые служат источником инфицирования муравьев (101).

Вирус мешотчатого расплода. SBV широко распространен в популяциях медоносной пчелы на всех континентах (35, 36). Вирус поражает пчел на всех стадиях жизненного цикла, но наиболее чувствителен к нему 2-суточный расплод. Вирусная инфекция у взрослых пчел развивается без клинических проявлений, но сокращает продолжительность жизни особей. SBV распространяется, когда ульевые пчелы начинают выбрасывать зараженных личинок. Вирус накапливается в слюнных железах пчелы, а затем разносится внутри колонии при кормлении расплода и обмене кормом. Молодые личинки заражаются, потребляя инфицированный корм. Вирус начинает реплицироваться на личиночной стадии пчелы, вызывая пожелтение личинок после запечатывания расплода. При прогрессировании заболевания кутикула становится жесткой и личинка не в состоянии окуклиться. Вирус накапливается в большом количестве под личиночной кутикулой (1, 102).

Зараженность SBV, как правило, носит сезонный характер с доми-

нированием весной и летом (8, 10). При мешотчатом расплоде, как и при гнильцовых инвазиях, рабочие пчелы обычно удаляют погибших личинок либо съедают их, что приводит к дальнейшему распространению инфекции внутри улья. По отношению к больным личинкам в некоторых пчелосемьях гигиеническое поведение может быть ослаблено: здоровые насекомые узнают латентно зараженных мешотчатым расплодом личинок до того, как произойдет нарастание количества вируса в мумифицированных пчелах и проявятся симптомы (103).

О роли клеща *Varroa* в трансмиссии SBV сообщается в многочисленных публикациях о выявлении вируса у летных пчел с высокой заклещеванностью (52, 73), а также в организме самих клещей (10, 42, 56).

Профилактика вирусных заболеваний у пчел. Согласно экспериментальным данным, вирусы ABPV, BQCV, CBPV, DWV, KBV и SBV могут обнаруживаться в пыльце, BQCV и DWV — дополнительно еще в меде, ABPV, CBPV, KBV и SBV — в перге (однако отсутствуют в слюне пчел и маточном молочке) (63). По данным других авторов, KBV и SBV обнаруживали в маточном молочке, а также в меде и пыльце (42).

Обнаружение вирусов у *V. destructor* указывает на его ключевую роль в трансмиссии каузального агента в заклещеванной пчелосемье (10, 21, 32, 51, 56, 66). Установлено, что тяжелые инфекции, вызванные вирусами ABPV, CBPV, медленного паралича (slow paralytic virus, SPV), BQCV, KBV, затемненного крыла (cloudy wing virus, CWV), SBV и DWV, которые приводят к развитию клинических признаков и гибели особей, были зарегистрированы в пчелосемьях с высокой заклещеванностью (10, 104). Дополнительные исследования показали, что эффективность трансмиссии вируса зависит от численности клеща в ячейке и, как следствие, от заклещеванности колонии. Более того, наличие в ячейке инфицированных и неинфицированных клещей приводит к тому, что неинфицированные клещи также заражаются через гемолимфу зараженной куколки. Этот факт не оставляет сомнения, что высокая заклещеванность представляет угрозу для пчеловодства во всем мире.

В настоящее время существует три направления исследований по обозначенной проблеме: разработка методов борьбы с клещом, селекция пород пчел *A. mellifera*, устойчивых к клещу, и обработка пчел против вирусных инфекций. Перечисленные подходы необходимо применять в комплексе, поскольку при проведении метагеномных исследований пчелиных семей, которые подверглись коллапсу, и тех семей, которые выжили, установлено, что основными маркерами коллапса пчелиных семей служит присутствие *V. destructor* вместе с IAPV и DWV (91).

Для снижения вероятности гибели пчелосемей необходимо контролировать популяцию клеща *Varroa* (105). Поскольку клещ активирует скрытые вирусные инфекции, ослабляет иммунитет и нарушает обмен веществ, то сдерживание заклещеванности служит залогом благополучия пчелосемей. В отсутствие клеща и при благоприятных условиях внешней среды вирусные инфекции не представляют опасности для пчел (106). Вирусы пчел могут быть идентифицированы в теле трутня (95), в сперме трутней (63, 107), а также в сперматеке маток (68), что предполагает вертикальный путь передачи вирусов потомству и вероятность заражения матки во время спаривания. Поскольку матки в течение жизни откладывают десятки тысяч яиц, вертикальная передача инфекции может представлять серьезный риск для пчелиной колонии, угрожая ее выживанию, что указывает на важность регулярной и своевременной замены маток.

Попытки селекции устойчивых к клещу *Varroa* пород пчел делаются, но пока удовлетворительных результатов не принесли. Наблюдения за 150 пчелосемьями в течение 6 лет без применения акарицидов и с возможностью свободного роения показали, что на 3-й год гибель пчелосемей зимой достигла 80 %, но снизилась до 12-18 % в течение последующих 2 лет. В итоге в последний год осталось только 11 семей (108). Во Франции в течение 7 лет проводили наблюдения за 82 пчелосемьями (без обработки акарицидами), сравнивая их с семьями, которые обрабатывали акарицидами. По вариантам смертность семей во время зимовки статистически значимо не различалась, однако сбор нектара в необработанных семьях был на 41 % ниже. Таким образом, более устойчивые к клещу пчелы имели меньшую медопродуктивность, что не выгодно экономически (109).

Лечение вирусных инфекций пчел в настоящее время возможно с помощью малых интерферирующих РНК (микроРНК, миРНК) по принципу посттранскрипционного сайленсинга, связываясь с матричной РНК вирусов, приводя к деградации последних (110, 111). Источником миРНК является сама вирусная РНК, которая реплицируется через образование дцРНК (112, 113). В то же время в недавнем исследовании по применению принципа нокаута генов для борьбы с IBPV продемонстрирована эффективность этого подхода — процент гибели пчелосемей снижался (114). Оказалось, что при скармливании пчелам дцРНК вируса последняя активирует деградацию вирусной РНК IBPV. Однако проблема создания таких препаратов заключается в высокой себестоимости производства и сложности их целенаправленной доставки в органы и ткани насекомого. Аналогичный подход был применен для купирования симптомов при инфицированности DWV. Так, скармливание зараженным пчелам дцРНК DWV блокировало у них репликацию DWV (115). В качестве еще одного потенциально эффективного способа борьбы с вирусными инфекциями пчел рассматривается применение РНКаз. Например, РНКазы могут инактивировать ABPV при предварительной инкубации *in vitro* суспензии вируса с препаратами РНКаз. Последующее заражение личинок обработанной вирусной суспензией не оказывало негативного влияния на зараженных личинок (115). Однако сохраняется более сложная задача — найти способ доставки этих препаратов в гемолимфу пчел.

Итак, из обнаруженных вирусов у медоносной пчелы наибольшее значение имеют вирус деформации крыла (DWV), вирус острого паралича (ABPV), вирус хронического паралича (CBPV), кашмирский вирус (KBV), вирус мешотчатого расплода (SBV), вирус черных маточников (BQCV). Вирусы ABPV, BQCV, CBPV, DWV обнаруживают в пыльце, BQCV и DWV — еще и в меде, ABPV, CBPV, KBV и SBV — в перге, меде, пыльце и маточном молочке. Показанная в многочисленных публикациях корреляция между накоплением большого количества перечисленных вирусов в организме пчел и их высокой заклещеванностью *Varroa destructor* указывает на то, что клещ выполняет роль агента, предрасполагающего к инфицированию пчел вирусами или активации у них латентной вирусной инфекции. Вирусы, попадая в организм пчел *per os*, в большинстве случаев не приводят к летальному исходу, тогда как при векторной передаче с участием *V. destructor* они вызывают массовую гибель пчел в течение короткого времени. Кроме того, для предотвращения проявления так называемого синдрома медоносных пчел, вызванного клещом-паразитом *Varroa* (bee parasitic mite syndrome), необходимо учитывать местные климатические особенности и то, какие методы пчеловодства применяются.

***Varroa destructor* AND A THREAT OF VIRAL INFECTIONS OF THE
HONEYBEE (*Apis mellifera* L.)
(review)**

A. V. Sprygin¹, Yu. Yu. Babin¹, E. M. Khanbekova², L. E. Rubtsova²

¹Federal Center for Animal Health Control, FGBU VNIIZZh, mkr. Yurievets, Vladimir, 600901 Russia, e-mail sprygin@arriah.ru;

²Institute of Zoology, Azerbaijan National Academy of Sciences, block 504, passage 1128, A. Abasov str., Baku AZ 1.1073, Azerbaijan Republic, e-mail golden_hive@hotmail.com

Received August 31, 2015

doi: 10.15389/agrobiol.2016.2.156eng

Abstract

Bee viral infections worldwide leading to colonies' depopulation have emerged as a threat to bee keeping. To date, nearly 20 RNA viruses, of *Dicistroviridae*, *Iflaviridae*, *Nodaviridae* families mostly, were detected in honeybee *Apis mellifera* (O.F. Grobov et al., 2006; C. Runckel et al., 2011). Also DNA viruses have been found, e.g. iridovirus (*Iridoviridae*), potentially causing losses of bee colonies (J.J. Bromenshenk et al., 2010), *Aphid Lethal Paralysis virus (Dicistroviridae)*, *Big Sioux River virus (Dicistroviridae)*, *Lake Sinai Virus strain 1 and 2 (Nodaviridae)* (C. Runckel et al., 2011) however, their role in bee mortality has yet to be understood. The most important bee viruses known to date are deformed wing virus (DWV), acute bee paralysis virus, (ABPV), chronic bee paralysis virus (CBPV), Kashmir bee virus, (KBV), sacbrood virus, (SBV), Black queen cell virus (BQCV). These viruses can persist in honey bees (*Apis mellifera* L.) without apparent symptoms, however, *Varroa destructor* infestation causes a viral epidemic, diminishing bee colonies. The range of *V. destructor*, the main viral infections' vector (D. Tentcheva et al., 2004), was confined to that of *A. cerana* being ecologically balanced. However, not long ago this mite crossed the species barrier from the Asian hive bee *A. cerana* to our own Western honey bee *A. mellifera* (R.S. Poltorzhitskaya, 2008). The introduction of *V. destructor* into the *A. mellifera* population has become one of the major contributing factors to colony collapse disorder (D. van Engelsdorp et al., 2008; R.M. Johnson et al., 2009; F. Nazzi et al., 2012). Moreover, the mite *Varroa* affect the immune response and metabolism of honey bees and allow its vectored viruses to propagate to high viral loads. At present there is an objective need for a closer look into bee viruses implicated in bee colony losses reported worldwide. So far as *Varroa* mite is an obligate parasite of *A. mellifera* during whole ontogenesis, the *Varroa* control notably ensures the well-being of bee colonies. In this review, an overview of the world distribution and the impact of the major viruses (DWV, ABPV, CBPV, SBV, BQCV, KBV) on bee health and colony survival is presented. We also discuss approaches to virus control. Overall, the strategy combining new *Varroa* management practices (A.A. Fedorova et al., 2011), selection of *Varroa*-resistant bees and novel treatments against viruses will help sustain the honey bee population.

Keywords: *Apis mellifera*, *Varroa destructor*, viruses, viral infection transmission, vectors.

REFERENCES

1. Grobov O.F., Batuev Yu.M., Kuz'micheva N.V., Sichanok E.V. *Pchelovodstvo*, 2006, 7: 26-28 (in Russ.).
2. Runckel C., Flenniken M.L., Engel J.C., Ruby J.G., Ganem D., Andino R., De Risi J.L. Temporal analysis of the honey bee microbiome reveals four novel viruses and seasonal prevalence of known viruses, *Nosema*, and *Crithidia*. *PLoS ONE*, 2011, 6: e20656 (doi: 10.1371/journal.pone.0020656).
3. Bailey L., Ball B.V., Woods R.D. An iridovirus from bees. *J. Gen. Virol.*, 1976, 31: 459-461 (doi: 10.1099/0022-1317-31-3-459).
4. Bromenshenk J.J., Henderson C.B., Wick C.H., Stanford M.F., Zulich A.W., Jabbour R.E., Deshpande S.V., McCubbin P.E., Seccomb R.A., Welch P.M.,

- Williams T., Firth D.R., Skowronski E., Lehmann M.M., Bilimoria S.L., Gress J., Wanner K.W., Cramer R.A., Jr. Iridovirus and microsporidian linked to honey bee colony decline. *PLoS One*, 2010, 5(10): e13181 (doi: 10.1371/journal.pone.0013181).
5. vanEngelsdorp D., Hayes J., Jr., Underwood R.M., Pettis J. A survey of honey bee colony losses in the U.S., fall 2007 to spring 2008. *PLoS ONE*, 2008, 3(12): e4071 (doi: 10.1371/journal.pone.0004071).
 6. vanEngelsdorp D., Evans J.D., Saegerman C., Mullin C., Haubruge E., Nguen B.K., Frazier M., Frazier J., Cox-Foster D., Chen Y., Underwood R.M., Tarry D.R., Pettis J.S. Colony collapse disorder: a descriptive study. *PLoS ONE*, 2009, 4(8): e6481 (doi: 10.1371/journal.pone.0006481).
 7. vanEngelsdorp D., Speybroeck N., Evans J.D., Nguyen B.K., Mullin C., Frazier M., Frazier J., Cox-Foster D., Chen Y., Tarry D.R., Haubruge E., Pettis J.S., Saegerman C. Weighing risk factors associated with bee colony collapse disorder by classification and regression tree analysis. *J. Econ. Entomol.*, 2010, 103(5): 1517-1523 (doi: 10.1603/EC09429).
 8. Bailey L., Ball B.V., Perry J.N. The prevalence of viruses of honey bees in Britain. *Ann. Appl. Biol.*, 1981, 97: 109-118 (doi: 10.1111/j.1744-7348.1981.tb02999.x).
 9. Bakonyi T., Farkas R., Szendrői A., Dobos-Kovács M., Rusvai M. Detection of acute bee paralysis virus by RT-PCR in honey bee and *Varroa destructor* samples: rapid screening of representative Hungarian apiaries. *Apidologie*, 2002, 33: 29-40 (doi: 10.1051/apido:2001004).
 10. Tentcheva D., Gauthier L., Zappulla N., Dainat B., Cousserans F., Colin M.E., Bergoin M. Prevalence and seasonal variations of six bee viruses in *Apis mellifera* L. and *Varroa destructor* mite populations in France. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2004, 70: 7185-7191 (doi: 10.1128/AEM.70.12.7185-7191.2004).
 11. Chen Y.P., Pettis J.S., Feldlaufer M.F. Detection of multiple viruses in queens of the honey bee, *Apis mellifera* L. *J. Invertebr. Pathol.*, 2005, 90: 118-121 (doi: 10.1016/j.jip.2005.08.005).
 12. Aubert M. Impact of virus infection in honey bees. In: *Virology and the honey bee* [M. Aubert, B.V. Ball, I. Fries, R.F.A. Moritz, N. Milani, I. Bernardinelli (eds.)]. European Communities, Luxembourg, 2008: 233-253.
 13. Grobov O.F., Guzeva L.N., Rodionova Z.E. *Opasnye bolezni i vrediteli pchel* [Honeybee diseases and pests (in Russ.)]. Moscow, 1992.
 14. Poltorzhitskaya R.S. *Epizootologiya, immunobiologiya, farmakologiya, sanitariya*, 2008, 1: 54-60 (in Russ.).
 15. Garrido C. *Reproduktionssteuerung bei der parasitischen Bienenmilbe Varroa destructor Anderson & Trueman (ehemals Varroa jacobsoni)*. Ph.D. Thesis at the Faculty of Biology at the University of Hohenheim. Hohenheim, 2008.
 16. Rath W. Co-adaptation of *Apis cerana* Fabr. and *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie*, 1999, 30: 97-110 (doi: 10.1051/apido:19990202).
 17. Boecking O., Spivak M. Behavioral defenses of honey bees against *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie*, 1999, 30(2-3): 141-158 (doi: 10.1051/apido:19990205).
 18. Rath W. The key to Varroa — the drones of *Apis cerana* and their cell cap. *Am. Bee J.*, 1992, 132(5): 329-331.
 19. Yang X., Cox-Foster D.L. Impact of an ectoparasite on the immunity and pathology of an invertebrate: evidence for host immune suppression and viral amplification. *PNAS USA*, 2005, 102: 7470-7475 (doi: 10.1073/pnas.0501860102).
 20. Nazzi F., Brown S.P., Annoscia D., Del Piccolo F., Di Prisco G., Varricchio P., Vedova G.D., Cattonaro F., Caprio E., Pennacchio F. Synergistic parasite-pathogen interactions mediated by host immunity can drive the collapse of honeybee colonies. *PLOS/pathogens*, 2012, 8(6): e1002735 (doi: 10.1371/journal.ppat.1002735).
 21. Yue C., Genersch E. RT-PCR analysis of deformed wing virus in honeybees (*Apis mellifera*) and mites (*Varroa destructor*). *J. Gen. Virol.*, 2005, 86: 3419-3424 (doi: 10.1099/vir.0.81401-0).
 22. Bowen-Walker P.L., Martin S.J., Gunn A. The transmission of deformed wing virus between honey bees (*Apis mellifera* L.) by the ecto-parasitic mite *Varroa jacobsoni* Oud. *J. Invertebr. Pathol.*, 1999, 73: 101-106 (doi: 10.1006/jipa.1998.4807).
 23. Khanbekova E.M., Rubtsova L.E. XIV Mezhdunarodnaya konferentsiya «Biologicheskoe raznoobrazie Kavkaza i yuga Rossii», posvyashchennaya 70-letiyu G.M. Abdurakhmanova [Proc. XIV Int. Conf. «Biodiversity of the Caucasus and Southern Russia» (in Russ.)]. Makhachkala, 2012: 381-385.
 24. Khanbekova E.M., Rubtsova L.E. *Proc. Azerb. Sos. Zool.*, 2013, 5(1): 196-207.
 25. Shimanuki H., Calderone N.W., Knox D.A. Parasitic mite syndrome: the symptoms. *Am. Bee J.*, 1994, 134: 827-828.
 26. Yang X., Cox-Foster D. Effects of parasitization by *Varroa destructor* on survivorship and physiological traits of *Apis mellifera* in correlation with viral incidence and microbial challenge. *Parasitology*, 2007, 134: 405-412 (doi: 10.1017/S0031182006000710).
 27. Chen Y.P., Siede R. Honey bee viruses. *Adv. Virus Res.*, 2007, 70: 33-80 (doi: 10.1016/S0065-

28. Genersch E., Yue C., Fries I., de Miranda J.R. Detection of deformed wing virus, a honey bee viral pathogen, in bumble bees (*Bombus terrestris* and *Bombus pascuorum*) with wing deformities. *J. Invertebr. Pathol.*, 2006, 91: 61-63 (doi: 10.1016/j.jip.2005.10.002).
29. Udina I.G., Kunizheva S.S., Zlobin V.I., Grishchkin A.E., Kalashnikov A.E., Krivtsov N.L., Uchaeva V.S. *Voprosy virusologii*, 2010, 55: 37-40 (in Russ.).
30. Luchko M.A., Sotnikov A.N. *Veterinariya*, 2012, 6: 9-14 (in Russ.).
31. Khanbekova E.M., Rubtsova L.E., Babin Yu.Yu., Elatkin N.P., Lavrukhin D.K., Tret'yakov A.V., Sprygin A.V. Porazhenie medonosnoi pchely *Apis mellifera caucasica* Gorb. virusami i parazitami i sostoyanie pchelinykh semei v raznykh ekologo-geograficheskikh usloviyakh Bol'shogo Kavkaza [Viruses and parasites of *Apis mellifera caucasica* Gorb. as related to losses of honeybee colonies in Big Caucasus mountings in Azerbaijan under different environmental conditions and location]. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]*, 2013, 6: 43-54 (doi: 10.15389/agrobiology.2013.6.43rus in Russ.; 10.15389/agrobiology.2013.6.43eng in Eng.).
32. Fujiyuki T., Takeuchi H., Ono M., Ohka S., Sasaki T., Nomoto A., Kubo T. Novel insect picornalike virus identified in the brains of aggressive worker honeybees. *J. Virol.*, 2004, 78: 1093-1100 (doi: 10.1128/JVI.78.3.1093-1100.2004).
33. Rortais A., Tentcheva D., Papachristoforou A., Gauthier L., Arnold G., Colin M.E., Bergoin M. *Deformed wing virus* is not related to honey bees' aggressiveness. *Virol. J.*, 2004, 3: e61 (doi: 10.1186/1743-422X-3-61).
34. Williams G.R., Rogers R.E.L., Kalkstein A.L., Taylor B.A., Shutler D., Ostiguy N. Deformed wing virus in western honey bees (*Apis mellifera*) from Atlantic Canada and the first description of an overtly infected emerging queen. *J. Invertebr. Pathol.*, 2009, 101: 77-79 (doi: 10.1016/j.jip.2009.01.004).
35. Allen M.F., Ball B.V. The incidence and world distribution of honey bee viruses. *Bee World*, 1996, 77: 141-162 (doi: 10.1080/0005772X.1996.11099306).
36. Ellis J.D., Munn P.A. The worldwide health status of honey bees. *Bee World*, 2005, 86: 88-101 (doi: 10.1080/0005772X.2005.11417323).
37. Nordström S., Fries I., Aarhus A., Hansen H., Korpela S. Virus infections in Nordic honey bee colonies with no, low or severe *Varroa jacobsoni* infestations. *Apidologie*, 1999, 30(6): 475-484 (doi: 10.1051/apido:19990602).
38. Nordström S. *Virus infections and Varroa mite infestations in honey bee colonies. Ph.D. Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsala*, 2000.
39. Santillán-Galicia M.T., Carzaniga R., Ball B.V., Alderson P.G. Immunolocalization of deformed wing virus particles within the mite *Varroa destructor*. *J. Gen. Virol.*, 2008, 89: 1685-1689 (doi: 10.1099/vir.0.83223-0).
40. Dainat B., Ken T., Berthoud H., Neumann P. The ectoparasitic mite *Tropilaelaps mercedesae* (Acari, *Laelapidae*) as a vector of honeybee viruses. *Insect Soc.*, 2009, 56: 40-43 (doi: 10.1007/s00040-008-1030-5).
41. Forsgren E., de Miranda J.R., Isaksson M., Wei S., Fries I. Deformed wing virus associated with *Tropilaelaps mercedesae* infesting European honey bees (*Apis mellifera*). *Exp. Appl. Acarol.*, 2009, 47: 87-97 (doi: 10.1007/s10493-008-9204-4).
42. Shen M., Cui L., Ostiguy N., Cox-Foster D. Intricate transmission routes and interaction between picorna-like viruses (*Kashmir bee virus* and *sac brood-virus*) with the honey bee host and the parasitic *Varroa* mite. *J. Gen. Virol.*, 2005, 86: 2281-2289 (doi: 10.1099/vir.0.80824-0).
43. Gisder S., Aumeier P., Genersch E. Deformed wing virus (DWV): viral load and replication in mites (*Varroa destructor*). *J. Gen. Virol.*, 2009, 90: 463-467 (doi: 10.1099/vir.0.005579-0).
44. Eyer M., Chen Y.P., Schäfer M.O., Pettis J., Neumann P. Small hive beetle, *Aethina tumida*, as a potential biological vector of honey bee viruses. *Apidologie*, 2009, 40: 419-428 (doi: 10.1051/apido:2008051).
45. Yue C., Schröder M., Gisder S., Genersch E. Vertical transmission routes for deformed wing virus of honeybees (*Apis mellifera*). *J. Gen. Virol.*, 2007, 88: 2329-2336 (doi: 10.1099/vir.0.83101-0).
46. Hails R.S., Ball B.V., Genersch E. Infection strategies of insect viruses. In: *Virology and the honey bee* /M. Aubert, B.V. Ball, I. Fries, R.F.A. Moritz, N. Milani, I. Bernardinelli (eds.). European Communities, Luxembourg, 2008: 255-275.
47. De Miranda J., Genersch E. Deformed wing virus. *J. Invertebr. Pathol.*, 2010, 103: 48-61 (doi: 10.1016/j.jip.2009.06.012).
48. De Miranda J.R., Fries I. Venereal and vertical transmission of deformed wing virus in honeybees (*Apis mellifera* L.). *J. Invertebr. Pathol.*, 2008, 98: 184-189 (doi: 10.1016/j.jip.2008.02.004).
49. Hung A.C.F., Adams J.R., Shimanuki H. Bee parasitic mite syndrome: II. The role of *Varroa* mite and viruses. *Am. Bee J.*, 1995, 135: 702.
50. Sumpter D.J.T., Martin S.J. The dynamics of virus epidemics in *Varroa*-infested honey bee colonies. *J. Anim. Ecol.*, 2004, 73: 51-63 (doi: 10.1111/j.1365-2656.2004.00776.x).

51. Shen M., Yang X., Cox-Foster D., Cui L. The role of *Varroa* mites in infections of *Kashmir bee virus* (KBV) and deformed wing virus (DWW) in honeybees. *Virology*, 2005, 342: 141-149 (doi: 10.1016/j.virol.2005.07.012).
52. Berenyi O., Bakonyi T., Derakhshifar I., Köglberger H., Nowotny N. Occurrence of six honeybee viruses in diseased Austrian apiaries. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2006, 72: 2414-2420 (doi: 10.1128/AEM.72.4.2414-2420.2006).
53. Highfield A.C., El-Nagar A., MacKinder L.C.M., Noel L.M.L.J., Hall M.J., Martin S.J., Schroeder D.C. Deformed wing virus implicated in overwintering honeybee colony losses. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2009, 75: 7212-7220 (doi: 10.1128/AEM.02227-09).
54. Guzmán-Nova E., Eccles L., Calvete Y., McGowan J., Kelly P.G., Correa-Benítez A. *Varroa destructor* is the main culprit for the death and reduced populations of overwintered honey bee (*Apis mellifera*) colonies in Ontario, Canada. *Apidologie*, 2010, 41: 443-450 (doi: 10.1051/apido/2009076).
55. Dainat B., Evans J.D., Chen Y.P., Gauthier L., Neumann P. Predictive markers of honey bee colony collapse. *PLoS ONE*, 2012, 7(2): e32151 (doi: 10.1371/journal.pone.0032151).
56. Chantawannakul P., Ward L., Boonham N., Brown M. A scientific note on the detection of honeybee viruses using real-time PCR (TaqMan) in *Varroa* mites collected from a Thai honeybee (*Apis mellifera*) apiary. *J. Invertebr. Pathol.*, 2006, 91: 69-73 (doi: 10.1016/j.jip.2005.11.001).
57. Topolska G., Ball B.V., Allen M. Identification of viruses in bees from two Warsaw apiaries. *Medycyna Weterynaryjna*, 1995, 51: 145-147.
58. Genersch E., von der Ohe W., Kaatz H., Schroeder A., Otten C., Büchler R., Berg S., Ritter W., Mühlen W., Gisder S., Meixner M., Liebig G., Rosenkranz P. The German bee monitoring project: a long term study to understand periodically high winter losses of honey bee colonies. *Apidologie*, 2010, 41(3): 332-352 (doi: 10.1051/apido/2010014).
59. van Engelsdorp D., Meixner M. A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them. *J. Invertebr. Pathol.*, 2010, 3(Suppl. 1): S80- S95 (doi: 10.1016/j.jip.2009.06.011).
60. Zhang X., He S.Y., Evans J.D., Pettis J.S., Yin G.F., Chen Y.P. New evidence that deformed wing virus and black queen cell virus are multi-host pathogens. *J. Invertebr. Pathol.*, 2012, 109(1): 156-159 (doi: 10.1016/j.jip.2011.09.010).
61. Gauthier L., Ravallec M., Tournaire M., Cousserans F., Bergoin M., Dainat B., de Miranda J.R. Viruses associated with ovarian degeneration in *Apis mellifera* L. queens. *PLoS ONE*, 2011, 6(1): e16217 (doi: 10.1371/journal.pone.0016217).
62. Chen Y.P., Pettis J.S., Collins A., Feldlaufer M.F. Prevalence and transmission of honey bee viruses. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2006, 72: 606-611 (doi: 10.1128/AEM.72.1.606-611.2006).
63. Chen Y.P., Evans J.D., Feldlaufer M.F. Horizontal and vertical transmission of viruses in the honey bee, *Apis mellifera*. *J. Invertebr. Pathol.*, 2006, 92: 152-159 (doi: 10.1016/j.jip.2006.03.010).
64. Chen Y.P., Pettis J.S., Collins A., Feldlaufer M.F. Prevalence and transmission of honey bee viruses. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2006, 72: 606-611 (doi: 10.1128/AEM.72.1.606-611.2006).
65. Hung A.C.F. PCR detection of *Kashmir bee virus* in honey bee excreta. *J. Apic. Res.*, 2000, 39: 103-106.
66. Ongus J.R., Peters D., Bonmatin J.-M., Bengsch E., Vlak J.M., van Oers M.M. Complete sequence of a picorna-like virus of the genus *Iflavirus* replicating in the mite *Varroa destructor*. *J. Gen. Virol.*, 2004, 85: 3747-3755 (doi: 10.1099/vir.0.80470-0).
67. Zhang Q.S., Ongus J.R., Boot W.J., Calls J., Bonmatin J.M., Bengsch E., Peters D. Detection and localization of picorna-like virus particles in tissues of *Varroa destructor*, an ectoparasitic of the honey bee, *Apis mellifera*. *J. Invertebr. Pathol.*, 2007, 96: 97-105 (doi: 10.1016/j.jip.2007.03.019).
68. Moore J., Jironkin A., Chandler D., Burroughs N., Evans D.J., Ryabov E.V. Recombinants between *Deformed wing virus* and *Varroa destructor* virus-1 may prevail in *Varroa destructor*-infested honeybee colonies. *J. Gen. Virol.*, 2011, 92: 156-161 (doi: 10.1099/vir.0.025965-0).
69. Mayo M.A. Names of viruses and virus species — an editorial note. *Arch. Virol.*, 2002, 147: 1463-1464 (doi: 10.1007/s007050200042).
70. Mayo M.A. A summary of taxonomic changes recently approved by ICTV. *Arch. Virol.*, 2002, 147: 1655-1663 (doi: 10.1007/s007050200039).
71. Facon J.-P. Paralyse chronique ou maladie noire. In: Précis de pathologie: connaître et traiter les maladies et abeilles. *CNEVA-FNOSAD*, 1992: 204-212.
72. Hung A.C., Shimanuki H., Knox D.A. In-apparent infection of acute paralysis virus and *Kashmir bee virus* in the U.S. honey bees. *Am. Bee J.*, 1996, 136: 874-876.
73. Batuev Yu.M. *Pchelovodstvo*, 1979, 7: 10-11 (in Russ.).

74. Nielsen S.L., Nicolaisen M., Kryger P. Incidence of acute bee paralysis virus, black queen cell virus, chronic bee paralysis virus, deformed wing virus, *Kashmir bee virus* and sac-brood virus in honey bees (*Apis mellifera*) in Denmark. *Apidologie*, 2008, 39: 310-314 (doi: 10.1051/apido:2008007).
75. Siede R., König M., Büchler R., Failing K., Thiel H.J. A real-time PCR based survey on acute bee paralysis virus in German bee colonies. *Apologia*, 2008, 39: 650-661 (doi: 10.1051/apido:2008044).
76. Bailey L., Carpenter J.M., Woods R.D. Egypt bee virus and Australian isolates of Kashmir bee virus. *J. Gen. Virol.*, 1979, 43: 641-647 (doi: 10.1099/0022-1317-43-3-641).
77. Bailey L., Woods R.D. Two more small RNA viruses from honey bees and further observations on sac-brood and acute bee-paralysis viruses. *J. Gen. Virol.*, 1977, 37: 175-182.
78. Ribière M., Ball B.V., Aubert M. Natural history and geographic distribution of honey bee viruses. In: *Virology and the honey bee*. M. Aubert, B.V. Ball, I. Fries, R.F.A. Moritz, N. Milani, I. Bernardinelli (eds.). European Communities, Luxembourg, 2008: 15-84.
79. Anderson D.L. Viruses of New Zealand honey bees. *New Zealand Beekeeper*, 1985, 188: 8-10.
80. Anderson D.L. Pests and pathogens of the honeybee (*Apis mellifera* L.) in Fiji. *J. Apic. Res.*, 1990, 29: 53-59.
81. Siede R., Derakhshifar I., Otten C., Berenyi O., Bakonyi T., Kog-lberger H., Büchler R. Prevalence of *Kashmir bee virus* in Central Europe. *J. Apic. Res.*, 2005, 44: 129 (doi: 10.1080/00218839.2005.11101164).
82. Hung A.C., Peng C.Y.S., Shimanuki H. Nucleotide sequence variation in *Kashmir bee virus* isolated from *Apis mellifera* L. and *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie*, 2000, 31: 17-23 (doi: 10.1051/apido:2000101).
83. Todd J., de Miranda J., Ball B.V. Incidence and molecular characterization of viruses found in dying New Zealand honey bee (*Apis mellifera*) colonies infested with *Varroa destructor*. *Apidologie*, 2007, 38: 354-367 (doi: 10.1051/apido:2007021).
84. Siede R., Büchler R. First detection of *Kashmir bee virus* in Hesse, Germany. *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.*, 2004, 117(1-2): 12-15.
85. Maori E., Lavi S., Mozes-Koch R., Gantman Y., Edelbaum O., Tanne E., Sela I. Isolation and characterization of IAPV, a dicistrovirus affecting honeybees in Israel: evidence for intro- and inter-species recombination. *J. Gen. Virol.*, 2007, 88: 3428-3438 (doi: 10.1099/vir.0.83284-0).
86. Chen Y.P., Evans J.D. Historical presence of *Israeli acute paralysis virus* in the United States. *Am. Bee J.*, 2007, 147: 1027-1028.
87. Cox-Foster D.L., Conlan S., Holmes E.C., Palacios G., Evans J.D., Moran N.A., Quan P.L., Briese T., Hornig M., Geiser D.M., Martinson V., vanEngelsdorp D., Kalkstein A.L., Drysdale A., Hui J., Zhai J., Cui L., Hutchison S.K., Simons J.F., Egholm M., Pettis J.S., Lipkin W.I. A metagenomic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder. *Science*, 2007, 318(5848): 283-287 (doi: 10.1126/science.1146498).
88. Palacios G., Hui J., Quan P.L., Kalkstein A., Honkavuori K.S., Bussetti A.V., Conlan S., Evans J., Chen Y.P., vanEngelsdorp D., Efrat H., Pettis J., Cox-Foster D., Holmes E.C., Briese T., Lipkin W.I. Genetic analysis of *Israeli Acute Paralysis Virus*: Distinct clusters are circulating in the United States. *J. Virol.*, 2008, 82(13): 6209-6217 (doi: 10.1128/JVI.00251-08).
89. Blanchard P., Schurr F., Celle O., Cougoule N., Drajnudel P., Thiery R., Faucon J.P., Ribière M. First detection of *Israeli acute paralysis virus* (IAPV) in France, a dicistrovirus affecting honeybees (*Apis mellifera*). *J. Invertebr. Pathol.*, 2008, 99: 348-350 (doi: 10.1016/j.jip.2008.07.006).
90. De Miranda J.R., Drebot M., Tylor S., Shen M., Cameron C.E., Stolz D.B., Camazine S.M. Complete nucleotide sequence of *Kashmir bee virus* and comparison with acute bee paralysis virus. *J. Gen. Virol.*, 2004, 85: 2263-2270 (doi: 10.1099/vir.0.79990-0).
91. Dall D.J. Multiplication of *Kashmir bee virus* in pupae of the honey bee, *Apis mellifera*. *J. Invertebr. Pathol.*, 1987, 49: 279-290 (doi: 10.1016/0022-2011(87)90060-7).
92. Brodsgard G., Ritter J.W., Hansen H., Brodsgard H.F. Interactions among *Varroa jacobsoni* mites, acute bee paralysis virus, and *Paenibacillus* larvae and their influence on mortality of larval honey bees in vitro. *Apidologie*, 2000, 31: 543-554 (doi: 10.1051/apido:2000145).
93. Chen Y.P., Pettis J.S., Evans J., Kramer M., Feldlaufer M.F. Transmission of *Kashmir bee virus* by the ectoparasitic mite *Varroa destructor*. *Apidologie*, 2004, 35: 441-448 (doi: 10.1051/apido:2004031).
94. Chen Y.P., Higgins J.A., Feldlaufer M.F. Quantitative analysis of deformed wing virus infection in the honey bee, *Apis mellifera* L. by real-time RT-PCR. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2004, 71: 436-441 (doi: 10.1128/AEM.71.1.436-441.2005).
95. Oldroyd B.P. What's killing American honey bees? *PLoS Biol.*, 2007, 5: e168 (doi: 10.1371/journal.pbio.0050168).
96. Johnson R.M., Evans J.D., Robinson G.E., Berenbaum M.R. Changes in transcript abundance relating to colony collapse disorder in honey bees (*Apis mellifera*). *PNAS USA*, 2009, 106: 14790-14795 (doi: 10.1073/pnas.0906970106).

97. De Miranda J., Cordon G., Budge G. The acute bee paralysis virus—*Kashmir bee virus*—*Israeli acute paralysis virus* complex. *J. Invertebr. Pathol.*, 2010, 103: 30-47 (doi: 10.1016/j.jip.2009.06.014).
98. Aubert M. Impact of virus infection in honey bees. In: *Virology and the honey bee* /M. Aubert, B.V. Ball, I. Fries, R.F.A. Moritz, N. Milani, I. Bernardinelli (eds.). European Communities, Luxembourg, 2008: 233-253.
99. Potts S., Biesmeijer J., Kremen C., Neumann P., Schweiger O., Kunin W.E. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends Ecol. Evol.*, 2010, 25(6): 345-353 (doi: 10.1016/j.tree.2010.01.007).
100. Celle O., Blanchard P., Olivier V., Schurr F., Cougoule N., Faucon J.P., Ribière M. Detection of *Chronic bee paralysis virus* (CBPV) genome and its replicative RNA form in various hosts and possible ways of spread. *Virus Res.*, 2008, 133(2): 280-284 (doi: 10.1016/j.virusres.2007.12.011).
101. Sotnikov A.N., Korolev A.V. *Pchelovodstvo*, 2014, 5: 30-32 (in Russ.).
102. Invernizzi C., Rivas F., Bettucci L. Resistance to chalk brood disease in *Apis mellifera* L. (*Hymenoptera: Apidae*) colonies with different hygienic behavior. *Neotropical Entomology*, 2011, 40: 28-34 (doi: 10.1590/S1519-566X2011000100004).
103. Martin S.J. The role of *Varroa* and viral pathogens in the collapse of honeybee colonies: a modeling approach. *J. Appl. Ecol.*, 2001, 38: 1082-1093.
104. Fries I., Camazine S., Sneyd J. Population dynamics of *Varroa jacobsoni*: a model and a review. *Bee World*, 1994, 75: 5-28.
105. Genersch E. Honey bee pathology: current threats to honey bees and beekeeping. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2010, 87(1): 87-97 (doi: 10.1007/s00253-010-2573-8).
106. Yue C., Schröder M., Bienefeld K., Genersch E. Detection of viral sequences in semen of honeybees (*Apis mellifera*): evidence for vertical transmission of viruses through drones. *J. Invertebr. Pathol.*, 2006, 92: 93-96 (doi: 10.1016/j.jip.2006.03.001).
107. Fries I., Imdorf A., Rosenkranz P. Survival of mite infested (*Varroa destructor*) honey bee (*Apis mellifera*) colonies in a Nordic climate. *Apologia*, 2006, 37: 564-570 (doi: 10.1051/apido:2006031).
108. Le Conte Y., de Vaublanc G., Crauser D., Jeanne F., Rouselle J.C., Bécard J.M. Honey bee colonies that have survived *Varroa destructor*. *Apidologie*, 2007, 38: 566-572 (doi: 10.1051/apido:2007040).
109. Meister G., Tuschl T. Mechanisms of gene silencing by double-stranded RNA. *Nature*, 2004, 431: 343-349 (doi: 10.1038/nature02873).
110. Mello C.C., Conte D., Jr. Revealing the world of RNA interference. *Nature*, 2004, 431: 338-342 (doi: 10.1038/nature02872).
111. Voinnet O. Induction and suppression of RNA silencing: insights from viral infections. *Nat. Rev.*, 2005, 6(3): 206-220 (doi: 10.1038/nrg1555).
112. Obbard D.J., Gordon K.H.J., Buck A.H., Jiggins F.M. The evolution of RNAi as a defense against viruses and transportable elements. *Philos. Trans. R. Soc. Lond., B, Biol. Sci.*, 2009, 364: 99-115 (doi: 10.1098/rstb.2008.0168).
113. Hunter W., Ellis J., vanEngelsdorp D., Hayes J., Westervelt D., Glick E., Williams M., Sela I., Maori E., Pettis J., Cox-Foster D., Paldi N. Large-scale field application of RNA interference (RNAi) technology to reduce impact of *Israeli Acute Paralysis Virus* (IAPV) induced disease in honey bees (*Apis mellifera*), *Hymenoptera: Apidae*. *PLoS/pathogens*, 2010, 6(12): e1001160 (doi: 10.1371/journal.ppat.1001160).
114. Desai S.D., Eu Y.J., Whyard S., Currie R.W. Reduction in deformed wing virus infection in larval and adult honey bees (*Apis mellifera* L.) by double-stranded RNA ingestion. *Insect. Mol. Biol.*, 2012, 21(4): 446-455 (doi: 10.1111/j.1365-2583.2012.01150.x).
115. Fedorova A.A., Azzami K., Ryabchikova E.I., Spitsyna Y.E., Silnikov V.N., Ritter W., Gross H.J., Tautz J., Vlassov V.V., Beier H., Zenkova M.A. Inactivation of a non-enveloped RNA virus by artificial ribonucleases: honey bees and acute bee paralysis virus as a new experimental model for in vivo antiviral activity assessment. *Antiviral Res.*, 2011, 91(3): 267-277 (doi: 10.1016/j.antiviral.2011.06.011).