

Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Московский государственный университет
имени М.В.Ломоносова»
Биологический факультет

На правах рукописи

Шевцова Анна Александровна
РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ И ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОМОВ
7 ПАТОГЕННЫХ ВИРУСОВ ПЧЕЛ, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ
НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Специальность: 1.5.7 – генетика

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Научный руководитель:
старший научный сотрудник, кандидат биологических наук
Кокаева Зарема Григорьевна

Москва 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ.....	4
ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	10
1.1. Пчела медоносная: общая характеристика и экономическое значение	10
1.2. Факторы, влияющие на здоровье <i>Apis mellifera</i>	12
1.3. Вирусы медоносной пчелы	14
1.4. Морфология и геном вирусов пчел.....	15
1.5. Вирусная репликация	19
1.6. Роль клеща <i>Varroa destructor</i> в развитии вирусных заболеваний..	20
1.7. Возможные пути распространения вирусов пчел.....	21
1.8. Вирус деформации крыла.....	25
1.9. Вирус мешотчатого расплода.....	28
1.10. Вирус черных маточников	30
1.11. Вирус острого паралича	32
1.12. Кашмирский вирус	34
1.13. Вирус израильского паралича	35
1.14. Вирус хронического паралича	36
1.15. Заключение.....	37
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	38
2.1. Образцы.....	38
2.2. Выделение РНК	38
2.3. Обратная транскрипция	39

2.4. Дизайн высокоспецифичных праймеров.....	39
2.5. Проведение полимеразной цепной реакции	41
2.6. Подготовка образцов к секвенированию.....	42
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	44
3.1. Детекция вирусов в колониях пчел	44
3.2. Анализ данных секвенирования	53
3.3. Разработка новых высокоспецифичных ПЦР тест-систем в режиме реального времени.....	67
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	71
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	72
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	84

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

- ABPV – Acute Bee Paralysis Virus, вирус острого паралича
- AHB – Africanised Honey Bee, африканизированная пчела
- AmFV – Apis mellifera Filamentous Virus, нитевидный вирус Apis mellifera
- AN – Accession Number, номер доступа
- ARV-1 – Apis mellifera rhabdovirus, рабдодовирус Apis mellifera 1
- BAC – Bacterial Artificial Chromosome, бактериальная искусственная хромосома
- BQCV – Black Queen Cell Virus, вирус черных маточников
- CBPV – Chronic Bee Paralysis Virus, вирус хронического паралича
- CCD – Colony Collapse Disorder, синдром разрушения пчелиных колоний
- DAPI - 4,6-diamidino-2-phenylindole, 4,6-диамидин-2-фенолиндол
- DWV – Deformation Wing Virus, вирус деформации крыла
- EF1 – Elongation factor 1, фактор элонгации 1
- IAPV – Israeli Acute Paralysis Virus, израильский вирус острого паралича
- IGR – intergenic region, межгенная область
- IRES - Internal Ribosome Entry Site, внутренний сайт посадки рибосомы
- KBV – Kashmir Bee Virus, кашмирский вирус
- MMLV - Moloney Murine Leukemia Virus, вирус лейкемии мышей Молони
- OPN1LW - Long Wave sensitive Opsin, родопсин, чувствительный в области длинных волн
- RdRp – RNA-dependent-RNA-polymerase, РНК-зависимая РНК-полимераза
- SBV – Sacbrood Bee Virus, вирус мешотчатого расплода
- siRNA – small interfering RNA, малые интерферирующие РНК
- SNP – Single Nucleotide Polymorphism, однонуклеотидный полиморфизм
- VDV-1 – Varroa destructor virus 1, вирус Varroa destructor
- VP – Viral Protein, вирусный белок
- НТО – Нетранслируемая Область
- ОРС – Открытая Рамка Считывания

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. В последнее время по всему миру, в том числе в России, регистрируют бессимптомную массовую гибель пчелиных семей. По предварительным подсчетам, показатель смертности семей на исследуемых пасеках Российской Федерации варьирует от 28 до 100% и в среднем составляет 72%. Причиной данного явления называют заражённость пчелиных семей одним или несколькими патогенными вирусами пчёл (ПВП). В течение последних лет обнаружено более 30 различных вирусов, поражающих медоносную пчелу. Вирусные заболевания приводят к ослаблению иммунитета и в ряде случаев к гибели зараженных особей, вплоть до утраты всех семей пчел. 7 вирусов вызывают наиболее тяжелые последствия для здоровья пчел (ABPV, IAPV, KBV, BQCV, SBV, CBPV и DWV).

Роль медоносной пчелы в окружающей среде трудно переоценить. Во-первых, *Apis mellifera* является одним из главных опылителей растений, для некоторых – единственным опылителем. Для некоторых подвидов пчел отмечено ассортативное опыление только определенного вида растения. Большинство продовольственных сельскохозяйственных культур также опыляется пчелой. Во-вторых, растения, опыляемые медоносной пчелой, а также сами пчелы являются звеньями пищевых цепей многих экосистем.

Если не принять экстренных мер, то число семей в будущем может резко сократиться, что напрямую угрожает сохранности уникального генофонда медоносных пчёл и других организмов. Будет нарушен баланс внутри экосистем, что повлечёт исчезновение ценных видов растений и животных, в первую очередь сельскохозяйственных, в целом продуктивность лесных и прочих сообществ катастрофически снизится. Продовольственная безопасность России, а в связи с похожей ситуацией и в других странах – в конечном итоге всего мира, будет под угрозой. В качестве примера можно привести печальный опыт провинции Сычуань в Китае – к 2001 году в регионе вымерли почти все популяции диких пчел, и опыление растений пришлось проводить вручную. В

дальнейшем о культивировании некоторых видов вообще пришлось забыть и заменить их на виды, которым не требуются пчелы-опылители – яблони, например, пришлось заменить сливами.

Осложняет сложившуюся ситуацию практически полное отсутствие среди генетических и ветеринарных лабораторий России научных групп, занимающихся выявлением и изучением распространения вирусных заболеваний медоносной пчелы на территории страны. В связи с этим полностью отсутствует информация по распространению возбудителей вирусных заболеваний пчел на территории РФ как в целом, так и по регионам.

Поэтому, в настоящее время первостепенной задачей является оценка вирусоносительства в пчелиных семьях европейской части России с использованием молекулярно-генетических маркеров, расположенных в консервативных участках вирусного генома.

Так как избавление пчелиных семей от вирусных заболеваний пока не представляется возможным, необходимо использовать подходы, позволяющие контролировать проявление заболеваний в популяциях на ранних стадиях. В России для этого используют морфометрический анализ и пассивный сбор статистики клинических проявлений заболеваний пчел без идентификации возбудителей. Поэтому не менее важной задачей в борьбе с вирусами пчёл является разработка эффективных тест-систем для определения содержания РНК-содержащих вирусов в организме медоносной пчелы *Apis mellifera*. В дальнейшем это поможет составить карту распространённости вирусов на территории России.

Цель и задачи исследования. Цель работы – оценка вирусоносительства в пчелиных семьях европейской части России и полиморфизма фрагментов геномов следующих вирусов: острого паралича (ABPV), деформации крыла (DWV), хронического паралича (CBPV), черных маточников (BQCV), мешотчатого расплода (SBV), израильского паралича (IAPV) и кашмирского (KBV).

Для достижения поставленной цели определены следующие **задачи исследования:**

1) Выявить носительство пчёлами патогенных вирусов ABPV, BQCV, SBV, DWV, IAPV, CBPV и KBV и составить карту распространённости вирусов на европейской территории Российской Федерации.

2) Провести секвенирование участков гена *RdRp* вирусов ABPV, BQCV, SBV, DWV, IAPV, CBPV и KBV для сравнения с уже имеющимися в базах данных последовательностями с целью оценки его полиморфизма и выявления консервативных видоспецифичных участков.

3) Провести филогенетический анализ с использованием полученных в работе последовательностей вирусов пчел, а также общедоступных данных по геномам ПВП в других странах. Выявить изоляты наиболее близкие к российским, установить связь между вирусами различного географического происхождения.

4) Разработать тест-системы на основе методики ПЦР в реальном времени для идентификации распространенных на территории Российской Федерации патогенных вирусов пчел.

Научная новизна.

1) Впервые получены данные о распространённости 7 патогенных вирусов пчел в различных регионах Российской Федерации.

2) Получены уникальные последовательности участков геномов патогенных вирусов пчел, циркулирующих в российских популяциях медоносной пчелы.

3) Проведен филогенетический анализ с использованием полученных нами последовательностей *RdRp* вирусов пчел и открытых данных секвенирования базы Genbank, оценено родство вирусов.

4) Разработаны и созданы эффективные наборы праймеров и зондов для проведения ПЦР в режиме реального времени с целью оценки вирусносительства на территории Российской Федерации.

Практическая значимость работы.

1) Данные о распространенности патогенных вирусов на пасеках различных регионов России могут быть использованы для ветеринарного мониторинга. На основе результатов анализа полиморфизма участков гена *RdRp* и данных филогенетического анализа, могут быть определены родственные связи между штаммами вирусов. Это дает более полное представление о характере и особенностях распространения патогенных вирусов пчел в мире, и в дальнейшем будет способствовать разработке стратегии и мер по предотвращению массового вымирания пчел.

2) Оценка вирусоносительства с помощью молекулярно-генетических методов даст возможность выявлять вирусные заболевания на пасеках на ранних стадиях, своевременно принимать соответствующие меры, и управлять селекцией пчел, не допуская дальнейшего распространения вирусных заболеваний.

3) Тест-системы с использованием метода ПЦР в режиме реального времени являются эффективным и быстрым методом выявления вирусоносительства и могут стать перспективным методом для экспресс-диагностики вирусных заболеваний в лабораториях.

Положения, выносимые на защиту:

1) Региональная особенность распространения патогенных вирусов пчел среди популяций медоносной пчелы на территории Российской Федерации.

2) Полиморфизм участков гена *RdRp* изолятов вирусов пчел, выявленных на территории России, в сравнении как с другими отечественными изолятами, так и с нуклеотидными последовательностями изолятов из других стран мира.

3) Возможность совместной детекции исследованных видов патогенных вирусов пчел ABPV, DBV, SBV, BQCV, наиболее распространенных на территории Российской Федерации, с помощью тест-системы для ПЦР в режиме реального времени.

Апробация работы. Результаты диссертационной работы представлены на следующих международных и российских научных конференциях: Научно-практической конференции с международным участием «Генетика - фундаментальная основа инноваций в медицине и селекции» (Ростов – на –Дону, 2017), 18-ой Всероссийской конференции молодых учёных «Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и ветеринарии» (Москва, 2018), «Генетика и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы: IV Международная научная конференция к 55-летию основания Института генетики и цитологии НАН Беларуси» (Минск, Беларусь, 2020), «Пчеловодство и апитерапия: современное состояние и перспективы развития» (Уфа, 2022).

Публикация результатов исследований. По результатам исследований опубликовано 14 печатных работ: 7 статей в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для защиты диссертаций, 2 статьи в научном сборнике, 4 - в сборниках тезисов и материалов конференций, 1 книга.

Личный вклад. Присутствует на каждом этапе выполнения научно-квалификационной работы и заключается в разработке направления исследований, методики, сборе и подготовке биологического материала, проведении молекулярно-биологических экспериментов, биоинформатическом анализе, статистической обработке и интерпретации результатов, написании статей и тезисов.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 114 страницах, содержит 3 таблицы, 34 рисунка, 31 страницу приложений. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов исследования и их обсуждения, выводов и списка литературы, который включает 106 источников, из которых 90 на иностранных языках.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Пчела медоносная: общая характеристика и экономическое значение

Медоносная пчела (*Apis mellifera* L.) имеет важное экономическое и экологическое значение, так как является основным опылителем многих сельскохозяйственных культур. Кроме того, пчелиный мед и другие продукты пчеловодства используются в пищевой и медицинской промышленности. Известно, что около одной трети всех мировых сельскохозяйственных культур опыляется медоносной пчелой (Breeze et al., 2011). Опыление медоносной пчелой является обязательным при производстве таких сельскохозяйственных культур, как плодовые, орехоплодные, масличные, некоторые овощные и хлопчатник, а также опционально улучшает урожайность других культурных растений (Aizen et al., 2019). Огромное количество родов и видов может быть опылено только медоносной пчелой: голубика, яблоня, груша, миндаль, канталупа, некоторые виды винограда (Blazyte-Cereskiene et al., 2010). У брокколи, кольраби и китайской капусты повышается урожайность и количество семян при опылении пчелами (Sushil et al., 2013). Медоносная пчела имеет огромное экономическое значение для повышения урожайности и его качества у самоопыляемых культур. Без опылителей урожайность некоторых фруктов и ореховых культур снижается на 90% (Crotti et al., 2013). Вклад *A. mellifera* в производство сельскохозяйственных продовольственных культур в мире составляет 11 с лишним триллионов рублей, или около 10 процентов стоимости всех пищевых продуктов, потребляемых человечеством. Исчезновение пчел может нанести во всем мире ущерб почти на 26 триллионов рублей (Khalifa et al., 2021).

Неудивительно, что именно пчела является четвертым по счету насекомым (после плодовой мушки *Drosophila melanogaster*, малярийного комара *Anopheles gambia* и тутового шелкопряда *Bombyx mori*), чей геном был отсеквенирован (The Honeybee Genome Sequencing Consortium, 2006).

Пчелы в качестве насекомых-опылителей возникли в середине мелового периода синхронно с цветковыми растениями. Функциональной единицей является пчелиная семья, состоящая из матки, трутней и рабочих пчел. Матка и рабочие пчелы диплоидны и развиваются из оплодотворенных яиц, трутни – гаплоидны и развиваются из неоплодотворенных яиц. Количество хромосом в таком гаплоидном наборе – 16, все разной морфологии (рис.1).

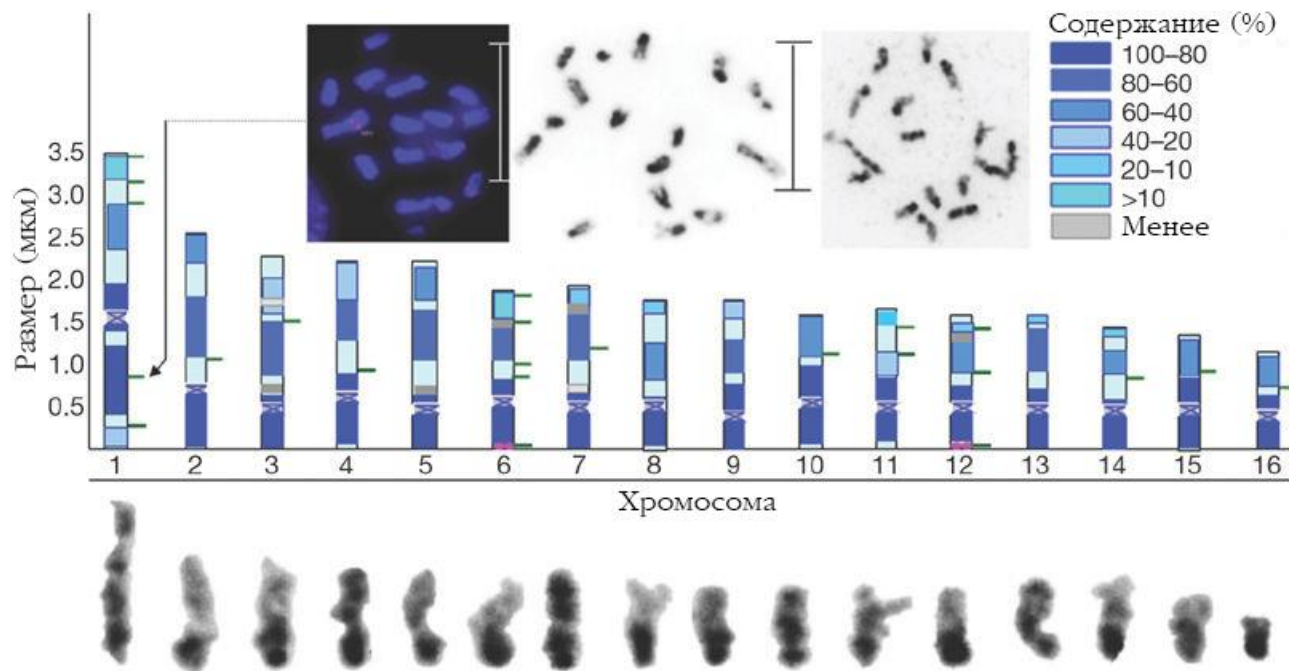


Рисунок 1. Идиограмма (синий цвет) показывает средние длины хромосом, положения и размеры DAPI-положительных (гетерохроматиновых) полос. Процент содержания гетерохроматина отражает время появления гетерохроматиновых полос (100% наблюдается во всех препаратах, более низкие проценты наблюдаются только в ранней профазе). На центральном фото - VACs, визуализированные с помощью FISH, для определения порядка и положения, предсказанных с помощью генетического картирования. Кариотип (ниже идеограммы) основан на разбросе хромосом с правого фото (The Honeybee Genome Sequencing Consortium, 2006).

Размер генома составляет примерно 260 млн. пар оснований (The Honeybee Genome Sequencing Consortium, 2006).

Реконструкция филогении пчёл на уровне семейств и подсемейств с помощью анализа белок-кодирующих генов фактора элонгации 1 (*EF1*), субъединиц РНК-полимеразы 2 (*polr2*), LWS опсина (*OPNILW*) (чувствительного в длинноволновой области, красной части спектра) и генов рРНК 28S и 18S позволяет четко определить филогенетические взаимоотношения пчел. В процессе эволюции пчел описаны взаимоотношения «хозяин-растение – реципиент-пчела», а специфичность пчелы относительно хозяина-растения является родовой чертой пчел (Калашников, 2013).

Анализ генетического разнообразия популяций *Apis mellifera* с помощью SNP-маркеров показал, что медоносная пчела возникла в Африке, откуда пошло ее дальнейшее распространение в Европу и на восточную часть Евразии двумя волнами. В результате спектры подвидов пчел в Восточной и Западной Европе относительно близки географически, но удалены генетически. Третья волна распространения медоносных пчёл носила антропогенный характер, в результате привела к вытеснению африканскими пчёлами *Apis mellifera scutellata* ранее интродуцированных европейских подвидов пчёл, что затрудняет характеристику истинно аборигенных пчел (Whitfield et al., 2006).

1.2. Факторы, влияющие на здоровье *Apis mellifera*

В России активная антропогенная интродукция и смешение пород привело к снижению разнообразия пчел. Изначально метизация аборигенных пород с привозными линиями активно пропагандировалась, но на самом деле продуктивность гибридов уменьшалась. Например, в Новосибирской области скрещивание пчел южных линий со среднерусскими пчелами местной популяции привело к созданию низкопродуктивных и агрессивных пчёл. Даже при замене маток на чистопородные показатели породы не улучшились до

уровня стандарта породы. Из этого следует проблема малых размеров популяции (Острогляд, 2011).

Малые размеры популяции приводят к трем опасным последствиям: снижению аллельного разнообразия, то есть полиморфизм популяции утрачивается в результате генетического дрейфа; инбредной депрессии, снижающей жизнеспособность и в перспективе способствующей вымиранию популяции; возрастанию угрозы вымирания в силу случайных внешних причин – эпизоотия, стихийное бедствие, неконтролируемое антропогенное воздействие (Locke et al., 2017; Батуев, Горячева, 2010).

В последние несколько лет возникла серьезная проблема со здоровьем пчел, влияющая на мировую экономику. Количество популяций пчел в Северной Америке и Европе сократилось на 30% за последние 7 лет (van Engelsdorp и Meixner, 2010). В Великобритании и странах Африки наблюдаемое сокращение численности пчелиных колоний доходит до 50% по сравнению с данными десятилетней давности (Kandel et al., 2023).

Наблюдаемое сокращение численности популяций пчел обуславливается не только степенью их гибридизации или инбредного вырождения, на их численность влияют и другие факторы, например, продовольственные факторы, изменение климата, активное использование пестицидов в сельском хозяйстве, а также – вирусные заболевания (Aronstein and Murray, 2010; Brodschneider and Crailsheim, 2010; van Engelsdorp et al., 2012; Runckel et al., 2011; Wilfert et al., 2016; Lu et al., 2014; Potts et al., 2016).

В 2006 году впервые был описан феномен, получивший название «Синдром разрушения пчелиных колоний» (англ. Colony Collapse Disorder, или CCD). Это явление, при котором большинство рабочих взрослых пчел безвозвратно покидает семью. Оно также имеет серьезные последствия для фермеров и производителей, использующих *Apis mellifera* в качестве опылителей (van Engelsdorp et al., 2007).

При CCD популяция пчел сокращается очень резко – до 90% всех взрослых рабочих пчел исчезает. При этом в таких колониях остается много продуктов в виде меда и пыльцы, а также большое количество брошенного расплода. Иногда в улье остается матка с небольшой группой рабочих пчел. Странным явлением является то, что ни оставшиеся пчелы, ни пчелы других семей, ни восковая моль не притрагиваются к меду и воску, как обычно бывает с оставленными ульями (Tantillo et al., 2015).

До сих пор точные причины и значения коллапса колоний неизвестны и активно обсуждаются в академических сообществах, но многие исследования показывают, что вирусы пчел являются одними из основных факторов появления синдрома разрушения пчелиных колоний (Johnson, 2010; Nazzi et al., 2012; Levin et al., 2019).

1.3. Вирусы медоносной пчелы

В течение последних лет обнаружено около 30 различных РНК-вирусов, поражающих *Apis mellifera* (Remnant et al., 2017). Эти вирусы способны инфицировать пчелу на разных стадиях развития, начиная от яйца и заканчивая взрослой особью (Ullah et al., 2021). Хотя обычно вирусы присутствуют в организме медоносной пчелы в скрытой форме, не вызывая никаких явных признаков болезни, они могут резко проявиться и повлиять на здоровье пчел и сократить жизнь пораженных особей (Olgun et al., 2020). В некоторых случаях вирусные заболевания летальны и могут привести к исчезновению всех семей (Berenyi et al., 2006).

7 вирусов вызывают наиболее тяжелые последствия для здоровья пчел, все они относятся к порядку *Picornavirales*:

ABPV (acute bee paralysis virus) – вирус острого паралича

IAPV (Israeli acute paralysis virus) – израильский вирус острого паралича

KBV (kashmir bee virus)– кашмирский вирус

Эти 3 вируса относятся к семейству *Dicistroviridae*, роду *Aparavirus*.

BQCV (black queen cell virus) – вирус черных маточников, относится к тому же семейству, но к роду *Triatovirus*.

SBV (sac brood bee virus) – вирус мешотчатого расплода

DWV (deformation wing virus) – вирус деформации крыла

Оба вируса относятся к семейству *Iflaviridae*, роду *Iflavirus*.

CBPV (chronic bee paralysis virus) – вирус хронического паралича, не классифицирован.

Все эти вирусы широко распространены во всём мире (Reynaldi et al., 2011).

1.4. Морфология и геном вирусов пчел

Вирионы исследуемых вирусов (пор. *Picornavirales*) представляют собой изометрические частицы диаметром в среднем 13-30 нм. Вирусы обладают плавучей плотностью в CsCl в диапазоне от 1,33 до 1,42 г/мл и коэффициент седиментации 100-190S (Baker and Schroeder, 2008). Морфологически форма вирусных капсидов очень похожа. Из-за сходных морфологических характеристик их очень трудно отличить с помощью электронного микроскопа. Внешняя оболочка *Picornavirales* состоит из 60 повторяющихся протомеров, каждый из которых состоит из одной молекулы из трех субъединиц структуроподобных друг другу белков VP1, VP2, VP3. У некоторых вирусов (семейство *Dicistroviridae*) присутствует еще меньший четвертый белок VP4. Он расположен не на поверхности вириона, а на внутренней поверхности, на оси ниже VP1 и вероятно связан с геномной РНК (рис.2). Белки капсида играют важную роль в защите вирусной РНК от действия РНКазы, неблагоприятных условий, в определении специфичного хозяина вируса, а также участвуют в тканевом тропизме.

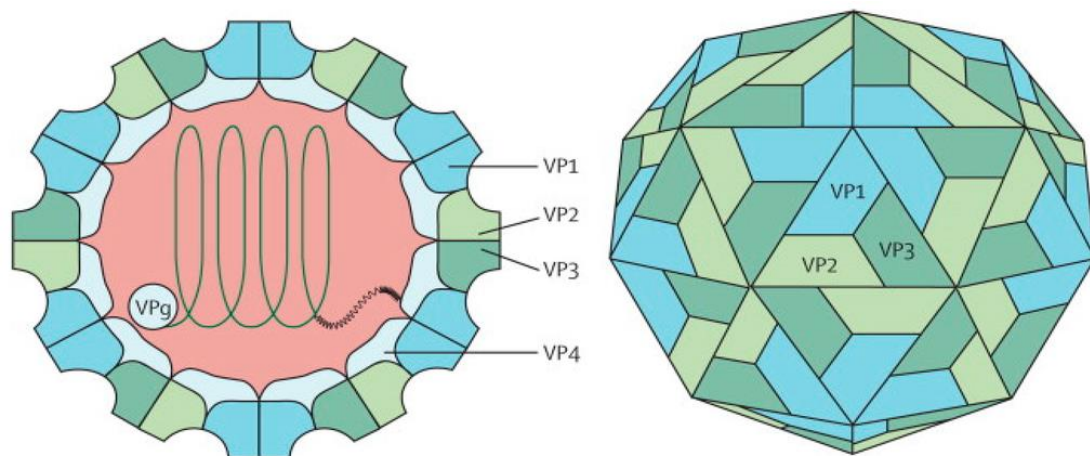


Рисунок 2. Структура вириона вирусов семейства *Dicistroviridae* (zhihu.com).

Вирусы медоносной пчелы имеют сходство в последовательностях генома, особенно хеликазы, протеазы и полимеразных доменов полипротеина репликазы, а также сходное расположение этих трех доменов. Геном всех вирусов представлен одной молекулой одноцепочечной (+)РНК размером 7,2—10,1 тыс. нуклеотидов, связанной с капсидными белками. Геномная РНК полиаденилирована на 3'-конце и имеет белок VPg, связанный ковалентно с 5'-концом. Длина поли(А)-хвоста генетически определена и варьируется у разных вирусов. На 5'-нетранслируемой области содержится особая вторичная структура РНК, регуляторный участок IRES – участок внутренней посадки рибосомы, вовлеченный во внутреннюю инициацию трансляции. Белок VPg служит для стабилизации 5'-конца геномной РНК, участвует в репликации РНК, трансляции и, вероятно, выполняет сигнальные функции при инкапсидации (Сизенцов и др., 2012). Геномная РНК обладает инфекционностью, т.е. функционирует как мРНК.

Геном *Dicistroviridae* состоит из двух неперекрывающихся открытых рамок считывания (ОРС), разделенных межгенной областью и фланкированных нетранслируемыми областями. Иными словами, геном этих вирусов является монопартильным бицистроном. Первая и большая ОРС, расположенная в 5'-части генома, кодирует неструктурные белки, участвующие в репликации и

процессинге - хеликазу, протеазу и RdRp (рис.3). Вторая, более короткая ОРС расположена в 3'-части генома и кодирует 4 структурных полипептида капсида (de Miranda et al., 2010).

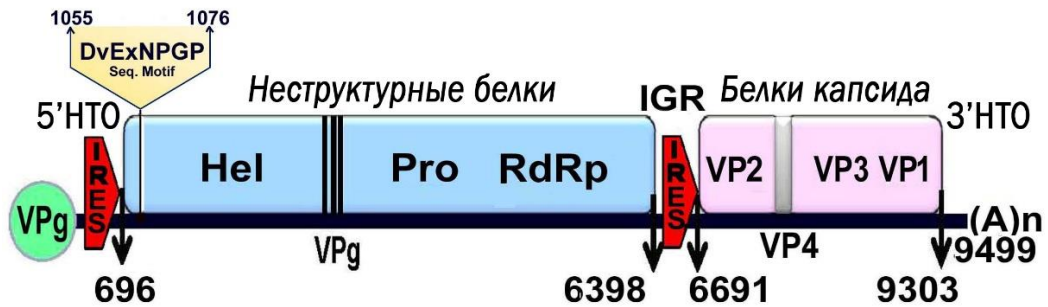


Рисунок 3. Структура генома израильского вируса острого паралича (IAPV) (Chen et al., 2014).

Геном вирусов семейства *Iflaviridae* состоит из одной рамки считывания, фланкированной протяженной 5'-нетранслируемой областью и короткой и высококонсервативной 3'-нетранслируемой областью (рис.4). Обе НТО вовлечены в регулирование репликации и трансляции. Таким образом, геном вирусов SBV и DWV представляет собой монопартирный моноцистрон, в котором структурные полипротеины закодированы в 5'-части ОРС, а неструктурные белки – в 3'-части ОРС (Tantillo et al., 2015). Часто структурным белкам предшествует область, кодирующая лидерный пептид (L), который отрезается от VP2 перед сборкой капсида. Функция данного пептида неизвестна (Valles et al., 2017).

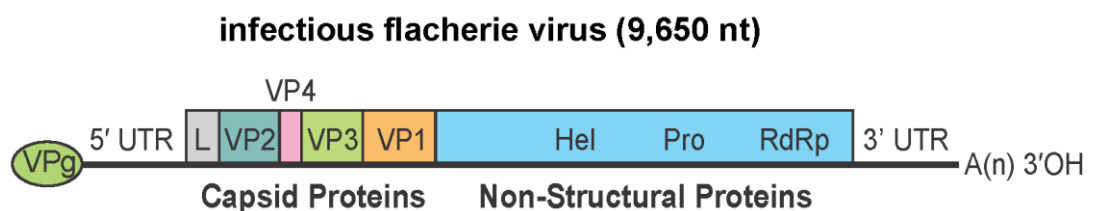


Рисунок 4. Структура генома вирусов семейства *Iflaviridae* (DWV, SBW) (Valles et al., 2017)

Вирус хронического паралича (CBPV) не относится ни к одному семейству и считается прототипом новой группы РНК вирусов. Он отличается от остальных 6 вирусов пчел по многим параметрам. Капсиды асимметричны, имеют эллипсоидную форму, диаметр 20-30 нм, длину около 60 нм. Геном вируса представлен двумя молекулами РНК (рис. 5). РНК-1 имеет размер около 3,6 тыс. нуклеотидов и содержит 3 перекрывающиеся открытые рамки считывания. РНК-2 имеет размер 2,3 тыс. нуклеотидов и кодирует 4 перекрывающиеся открытые рамки считывания (Olivier et al., 2008).

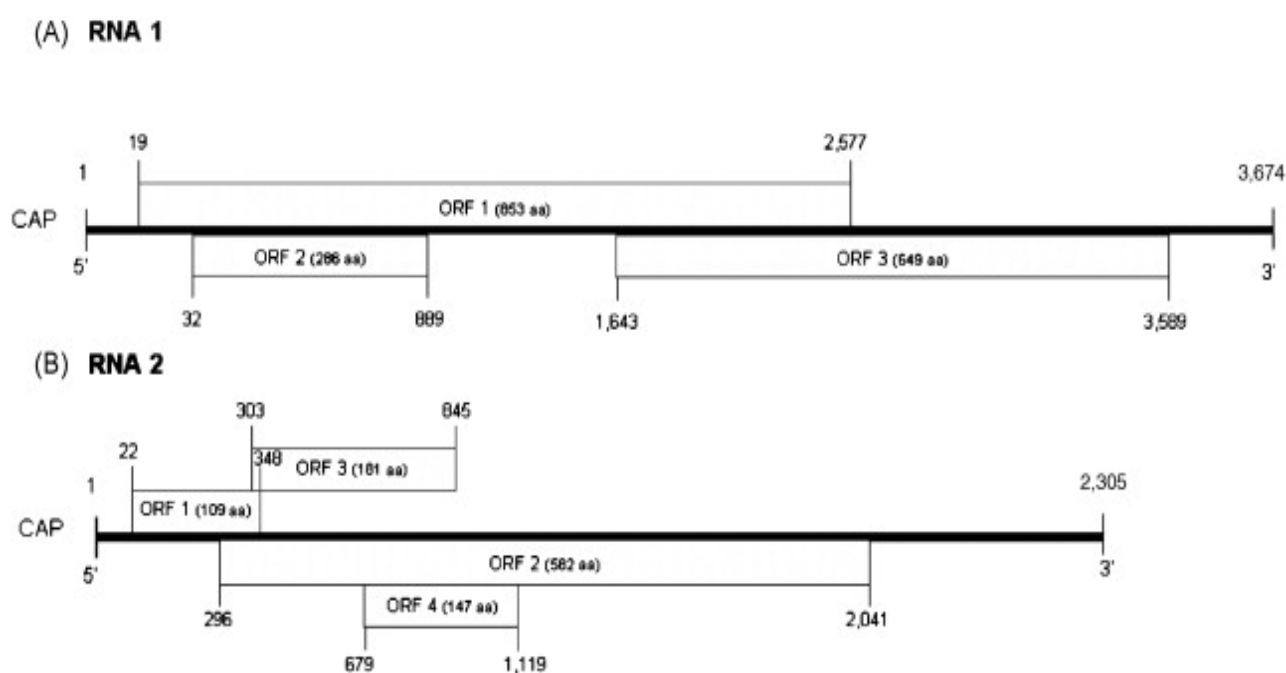


Рисунок. 5. Устройство двух РНК вируса CBPV (Olivier et al., 2008).

Первоначально было описано 5 РНК, выделившихся вместе. Помимо РНК-1 и РНК-2 выделялись еще 3 минорных, размером около 1 тыс. нуклеотидов. Однако в последующих исследованиях они не были обнаружены. Помимо этого, вместе с минорными РНК также наблюдались частицы размером 17 нм. Было выдвинуто предположение, что у CBPV существуют вирусы-сателлиты (Olivier et al., 2008). Вместе с тем, введение РНК-1 и РНК-2 достаточно для развития

инфекции (Youssef et al., 2015). Исследования РНК СРPV показали, что они имеют кэп-структуру и не имеют поли(А)-хвоста (Olivier et al., 2008).

До конца неизвестно, какие белки зашифрованы в ОРС, однако считается, что РНК-1 содержит ферменты, необходимые для вирусной репликации. Одна из ОРС кодирует белок, содержащий 8 консервативных доменов RdRp. В то же время РНК-2, скорее всего, кодирует капсидные белки (Seitz et al., 2019).

РНК-зависимая РНК-полимераза (RNA-dependent-RNA-polymerase, RdRp) – ключевой фермент вирусной репликации порядка *Picornavirales*, в связи с чем была признана хорошим маркером в исследованиях, касающихся классификации и эволюции РНК-вирусов. В гене *RdRp* (+)РНК-вирусов было выявлено 8 высококонсервативных доменов, подходящих для таксономии вирусов такого типа (Baker и Schroeder, 2008).

1.5. Вирусная репликация

Репликация пикорнавирусов характеризуется отсутствием стадии ДНК. После проникновения в клетку и разрушения оболочки вириона VPg отделяется от вирионной РНК клеточными ферментами. Пикорнавирусы обладают кэп-независимым механизмом трансляции, рибосомы связываются с 5'-нетранслируемой областью генома вируса, известной как рибосомальный входной сегмент, внутри мотива IRES. Синтез вирусной РНК происходит в репликативном комплексе, который включает РНК матрицы, кодируемую вирусом РНК-полимеразу и несколько других вирусных и клеточных белков. Синтез комплементарных цепей начинается на 3'-концах вирионной РНК с использованием белка VPg в качестве праймера. Основную массу репликативных продуктов в репликативном комплексе составляют полноразмерные комплементарные (-)РНК, среди которых встречаются (+)цепи, транскрибированные одновременно вирусной РНК-полимеразой (рис.6).

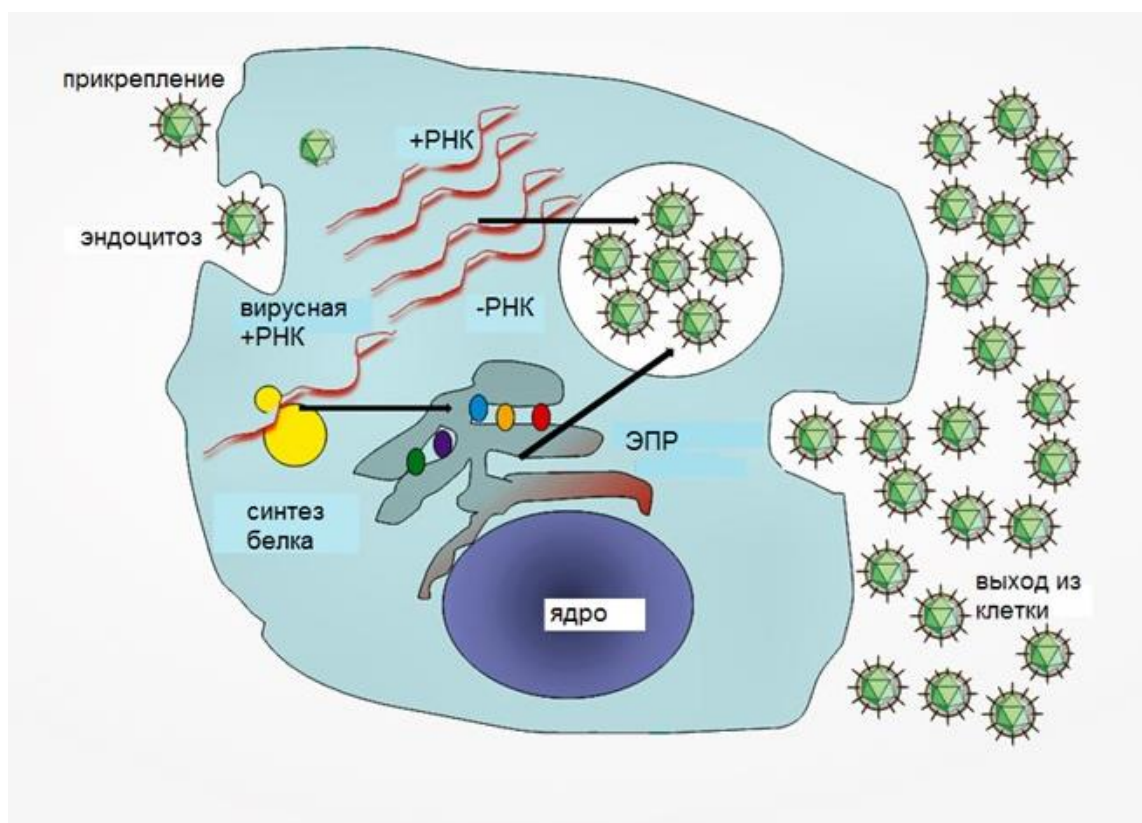


Рисунок 6. Схема репликации РНК-вирусов пчел: прикрепление и адсорбция, эндоцитоз, синтез вирусной мРНК, синтез вирусных белков, сборка вирусных частиц и выход из клетки

(<https://slideplayer.com/slide/14659443/90/images/13/Viral+cycle+of+infection.jpg>)

1.6. Роль клеща *Varroa destructor* в развитии вирусных заболеваний

При инфицировании почти всеми видами вирусов пчел активатором заболевания, по всей видимости, является клещевая инфекция (Спрыгин и др., 2016). Это может быть связано с тем, что клещ *Varroa destructor* является не только резервуаром для вирусов, но и ослабляет иммунитет пчел и способствует развитию вирусной инфекции. Во время инвазии у пчёл наблюдается иммуносупрессия со снижением уровня экспрессии генов, кодирующих антимикробные пептиды (гликозиды, дефензины) и ферменты (фенолоксидазу, глюкозооксидазу, глюкозодегидрогеназу и лизоцим). При снижении активности

глюкозодегидрогеназы в организме пчелы наблюдается большое количество гемоцитов с вирусными частицами в них (Yang X. и Cox-Foster, 2007).

Varroa destructor также служит вектором для некоторых вирусов пчел (Molineri et al., 2017). Помимо распространения этих вирусов, в некоторых случаях клещ *Varroa* как резервуар инфекции может приводить к отбору более вирулентных штаммов, а также вызывать более тяжелое течение заболевания (Steinhauer et al., 2018; Chantawannakul et al., 2018). В качестве причины рассматривается разница в путях заражения вирусами. При горизонтальной передаче инфекции, в частности во время трофаллакиса, вирус проникает в организм пчелы через ЖКТ, в то время как клещ *Varroa* доставляет вирус непосредственно в гемолимфу пчелы, что изменяет характер течения инфекции. Так, для вируса деформации крыла (DWV) было показано, что в семьях, не зараженных клещом, вирусная нагрузка (число копий вируса на одну пчелу) составляла около 10⁴-10⁶, а при заражении посредством клеща вирусная нагрузка увеличивается примерно в 100 раз (Woodford and Evans., 2021).

1.7. Возможные пути распространения вирусов пчел

Apis mellifera живет в колониях, состоящих из двух поколений: одна матка, или королева, и ее преемники. Отдельные особи в колонии работают вместе в высокоструктурированном социальном порядке и участвуют в многочисленных координационных взаимодействиях. Поскольку популяции пчел густонаселены, между членами колонии присутствует высокий уровень контакта при кормлении, химической коммуникации, что способствует активной передаче патогенов (Tantillo et al., 2015).

Передача возбудителя является наиболее важным этапом в распространении вирусных инфекций и эволюции отношений вирус-хозяин. Этот процесс определяет распространение и сохранение возбудителей в

популяции. Существует два пути передачи вирусов: горизонтальная и вертикальная (Mokel et al., 2011; Beaugrepaire et al., 2020).

При горизонтальном пути вирусы передаются между отдельными особями одного и того же поколения. При вертикальной передаче вирусы распространяются вертикально от матки к потомству через яйца, причем вирус может находиться как на поверхности, так и внутри яиц (Chen et al., 2006).

Из-за высокой плотности популяции, высокого уровня физического контакта и трофаллаксиса, наиболее значительными путями передачи вирусных болезней являются передача через пищу, кормление и орально-фекальная передача. Разные авторы отмечают высокие титры вируса в пище, кишечнике и фекалиях пчел. Отдельное исследование маток показало присутствие вирусов DWV и BQCV в тканях кишечника (Amiri et al., 2019). Количественная оценка присутствия вирусов в разных тканях выявила титр вируса в кишечнике, значительно превышающий показатели в других тканях, включая гемолимфу, яичники, голову, семяприемник и выпотрошенное брюшко. Это показывает преобладающую значимость передачи вирусов через пищу по сравнению с другими путями (Chen et al., 2006) (рис. 7).

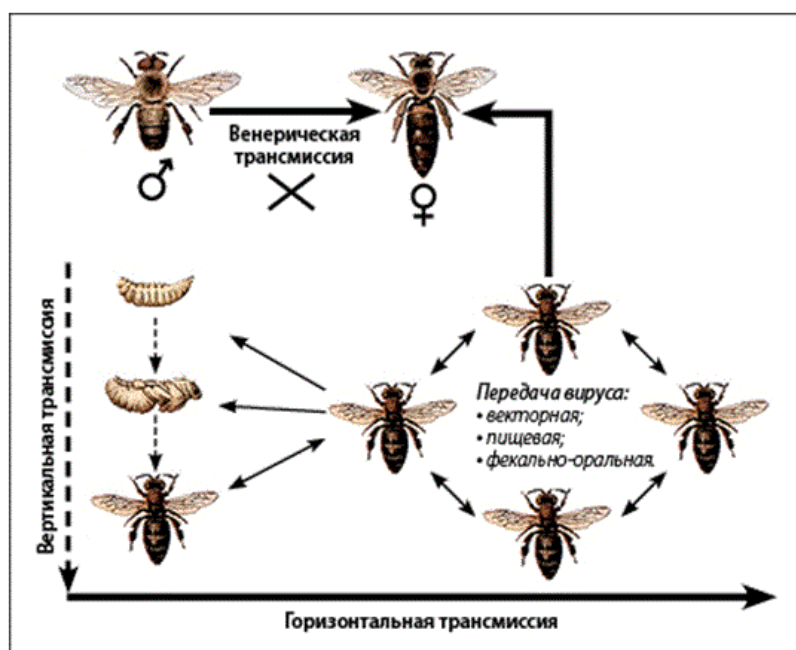


Рисунок 7. Пути передачи и распространения вирусов в пчелиной популяции (Волыхина, 2015).

Обнаружение вирусных геномных последовательностей в репродуктивной системе как маток, так и трутней, позволяет предположить существование передачи вируса половым путем. Половой путь передачи вируса DWV был продемонстрирован в эксперименте, при котором девственных, не зараженных DWV маток искусственно осеменяли инфицированной спермой. В последствии и в семяприемнике, и в яичниках были обнаружены геномные последовательности вируса (de Miranda and Fries, 2008). Несмотря на более низкие титры вируса в репродуктивных органах по сравнению с органами пищеварения, половой путь распространения вируса также имеет большое значение, так как гарантирует еще и вертикальную передачу – после осеменения матка возвращается в колонию и выпускает небольшое количество спермы, чтобы оплодотворить яйца. Таким образом, обеспечивается дальнейшее распространение вируса через вертикальную передачу следующему поколению. Кроме того, естественное спаривание происходит в зонах высокой концентрации трутней из разных семей, за один вылет матка спаривается с десятками особей. Это способствует распространению вируса по разным семьям. Но в природе существует некая защита от передачи инфекций – брачный полет, который недоступен слабым, генетически и физиологически дефектным особям. А в случае искусственного осеменения сперма обязательно должна быть проанализирована на наличие вирусов.

Вертикальный путь передачи вирусов присутствует у позвоночных, членистоногих и растений. Во многих работах такой путь был зафиксирован у *Apis mellifera*. Вертикальная передача осуществляется двумя способами – либо при оплодотворении яиц собранной маткой спермой, либо через овариальные ткани инфицированных маток до яйцекладки. В первом случае будут заражены только оплодотворенные яйца, из которых в будущем вырастут рабочие пчелы, тогда как во втором будет инфицирован расплод как рабочих пчел, так и трутней. В одном из исследований среди трех маток, искусственно оплодотворенных инфицированной DWV спермой, зараженными оказались только две; вирус был

обнаружен в яичниках и семяприемнике. При этом обе зараженные матки производили около 30% здорового потомства. Следовательно, эффективность вертикальной передачи может сильно варьироваться (de Miranda and Fries, 2008).

Другой способ передачи вируса – через носителя (разновидность горизонтального пути передачи инфекции). Носитель получает и передает вирусы от уже зараженной особи к здоровой. Вероятно, такую роль выполняет клещ *Varroa*, так как в организме этих эктопаразитов были обнаружены некоторые вирусы пчел (Shah et al., 2009).

Различные пути передачи играют решающую роль в определении вирулентности возбудителя. Эволюция вирулентности определяется конкуренцией между горизонтальными и вертикальными путями передачи. Горизонтальная передача сильно зависит от продукции большого количества патогенов, повышающих вирулентность. Этот способ передачи характеризуется более высокой скоростью размножения, что приводит к ослаблению хозяина. Напротив, патогены, передаваемые вертикальным способом, непосредственно зависят от выживания и размножения их хозяев. Вертикальная передача играет важную роль в долгосрочном сохранении вирусов в дикой природе. Любое снижение выживаемости хозяина и его способности к размножению приведет к уменьшению распространения возбудителя. Вертикальная передача связана с низкой вирулентностью, которая характерна для скрытых инфекций. Реплицируется небольшое количество возбудителя, патоген теряет возможность заразить нового хозяина. Если частота репликации патогенов слишком высока, высокая вирулентность приведет к повышенной смертности от инфекции, вызванной патогенами, и хозяева умрут прежде, чем успеют продуцировать новые вирусные частицы для заражения большего количества организмов. Поэтому пригодность патогена определяется конкуренцией между горизонтальным и вертикальным путями передачи. Оба способа являются важными стратегиями выживания вирусов не только для сохранения в популяции пчел, но и для их распространения в природе (Chen et al., 2006).

Вирусы выбирают наиболее подходящий путь передачи, основываясь на физиологических и экологических условиях. Когда семьи находятся в здоровых условиях, вирусы сохраняются и передаются вертикальным способом как скрытая инфекция, не вызывая каких-либо явных симптомов. Когда пчелы находятся в стрессовых условиях, таких как коинфекция другими патогенами или снижение пищевых ресурсов, вирусы переключаются на горизонтальную передачу. Высокое количество образовавшихся вирусных частиц приводит к гибели хозяев и возможному разрушению пчелиных семей. Механизмы, с помощью которых вирусы переходят с одной стратегии на другую у медоносных пчел, пока не изучены и не до конца понятны.

1.8. Вирус деформации крыла

Вирус деформации крыла (DWV) впервые был выделен на японских пасеках у взрослых пчел с особой деформацией крыльев (Bailey, Ball, 1991). DWV является одним из самых широко распространенных вирусов медоносных пчел по всему миру. За исключением Океании, инфекция DWV была зарегистрирована в Африке, Азии, Европе, Северной Америке и Южной Америке. Несколько исследований показали, что вирус DWV является наиболее распространенной инфекцией *Apis mellifera* по сравнению с другими вирусами пчел без каких-либо географических ограничений. Во Франции в 97% ульев присутствуют взрослые пчелы, зараженные DWV. Продемонстрирована более высокая распространенность DWV среди куколок, чем среди взрослых пчел; частота инфекций DWV увеличивалась от весны до осени (Tentcheva et al., 2006). Эти сезонные вариации частоты DWV также были гораздо более выраженными для куколок, чем для взрослых особей. Эти результаты, вероятно, связаны с незначительной эффективностью иммунной системы куколок по сравнению с таковой у взрослых пчел. Ряд авторов отметили, что в тайских ульях вирус DWV встречался чаще других вирусов пчел, и подтвердили большую

распространенность DWV у куколок (Sanra и Chantawannakul, 2009). Это исследование имело важное значение, поскольку оно установило наличие DWV также в пасаках, не зараженных паразитами *Varroa destructor* (de Miranda and Genersch, 2010).

DWV присутствует также в Южной Америке, где разводится конкретный гибрид *Apis mellifera* африканского происхождения, называемый африканизированной пчелой (АНВ). Высокий уровень устойчивости к клещам и другим патогенам способствовал распространению АНВ. В бразильских ульях вирус DWV проявлялся исключительно в семьях, сильно ослабленных клещом *V. destructor* (Teixeira et al., 2008). DWV - это вирус с низкой патогенностью и часто именно он ответственен за скрытые инфекции, которые могут проявиться после стрессовой ситуации, такой как высокая зараженность клещом, нехватка пищевых ресурсов или неправильный уход пчеловодом. DWV поражает на всех стадиях развития пчел, от яиц до взрослых особей (de Miranda and Genersch, 2010). Сохранение вируса DWV гарантируется его низкой патогенностью. Установлено, что он медленно размножается в своих хозяевах, не вызывая их гибели. Куколки могут завершить свой жизненный цикл, развиваясь в бессимптомных взрослых особей или с внешними проявлениями болезни, что зависит от наличия или отсутствия стрессового фактора в семьях. При этом, что для бессимптомных пчел, что для пчел с проявлениями замечено сокращение продолжительности жизни (Bailey, Ball, 1991). DWV является одним из нескольких вирусов пчел, которые обладают хорошо выраженными симптомами болезни. Характерные признаки инфекции DWV включают усохшие деформированные крылья, которые делают полет невозможным, уменьшенный размер тела и обесцвечивание у взрослых особей (рис.8). Механизм, с помощью которого DWV вызывает такие симптомы у стрессированных хозяев, пока не ясен. В любом случае типичные симптомы инфекции DWV часто обнаруживаются в пасаках, зараженных *V. destructor* (Tentcheva et al., 2004). Клещ ответственен за распространение DWV по всем тканям пчел за счет

циркуляции гемолимфы и реактивации вирусных инфекций (Fievet et al., 2006). В нескольких работах обнаружены колонии пчел с коинфекциями DWV и другими вирусами медоносных пчел (Sanra and Chantawannakul, 2009). В здоровых колониях эти коинфекции не связаны с вышеуказанными симптомами.



Рисунок 8. Молодые пчелы, пораженные вирусом деформации крыла (DWV) (https://www.ars.usda.gov/images/docs/7461_7655/bees-with-deformed-wings.jpg).

Предыдущие исследования продемонстрировали наличие DWV в фекалиях взрослых пчел (Chen et al., 2006), в железистых выделениях пчел-нянек (Fievet et al., 2006), в сперме внешне здоровых трутней (Yue et al., 2006), а также в спермаприемнике, яичниках и яйцах инфицированных маток (Yue et al., 2007). Эти данные подтверждают гипотезу о вертикальной и горизонтальной передаче вирусов через пищевые и половые пути.

Рекомбинация между различными типами вируса DWV вносит дополнительное разнообразие во множество близкородственных вариантов РНК-вирусов пчелы, связанное с низкой точностью *RdRp*. Отмечено, что такая рекомбинация носит блочный характер – происходит обмен структурными и бесструктурными белками. Это способствует большей адаптивности вируса (Ryabov et al., 2019). Ряд исследований разнообразия генетических вариантов DWV на Гавайях показал, что до распространения варроатоза на островах вирус

был представлен большим количеством вариантов. После массового заражения региона клещом *Varroa* разнообразие резко сократилось до нескольких, преобладающих также и по всему миру (Grinrod et al., 2021). Преобладание трех штаммов DWV над остальными связывают со способностью эффективно реплицироваться в организме клеща и, соответственно, успешно заражать пчелу. При этом в многолетних исследованиях штаммов DWV типа А и В в последние десять лет встречается тенденция элиминации DWV-А и преобладания DWV-В (Paxton et al., 2022).

1.9. Вирус мешотчатого расплода

Вирус мешотчатого расплода (SBV) вызывал наиболее распространенное заболевание медоносной пчелы, впервые обнаруженное в 1913 году в США (White, 1913). Этот вирус может заражать личинок или взрослых особей, личинки более чувствительны к инфекции. Действительно, SBV в первую очередь влияет на расплод пчел, поддерживая высокий уровень репликации, вызывает значительные морфологические изменения, приводящие к гибели личинок (Berenyi et al., 2006). Зараженные личинки не окукливаются, а экдизиальная жидкость с вирусными частицами SBV накапливается личиночными покровами, образуя «мешок». Зараженные личинки меняют свой цвет от жемчужно-белого до бледно-желтого и сразу же после смерти высыхают, образуя темно-коричневую «лодочку» (рис.9). У взрослых пчел инфекция присутствует в скрытом виде, проявляясь только уменьшением продолжительности жизни, без характерных симптомов (Berenyi et al., 2006). Взрослые особи, инфицированные SBV, предпочитают питаться нектаром вместо пыльцы, что приводит к дефициту питательных веществ в колонии и отражается на продолжительности жизни пчел (Dolezal, Toth, 2018). Скрытая форма заболевания способствует распространению SBV, так как этот вирус накапливается в головных тканях и особенно в гипофарингиальных железах; инфицированные пчелы-няньки, ответственные за кормление личинок, передают

вирус через зараженный железистый секрет. Кроме того, взрослые пчелы через день или два дня после запечатывания ячеек в сотах обнаруживают и удаляют личинок, пораженных SBV, в то время как вирус все еще заразен (Shen et al., 2005). Эти данные свидетельствуют о том, что SBV, вероятно, передается взрослым особям путем попадания в их организм тканей погибшей личинки, в первую очередь экдизиальной жидкости.

Обнаружение SBV в пыльце подтверждает возможность передачи вируса от рабочих пчел другим взрослым особям в семье через источники пищи. Возможно, что SBV может распространяться между семьями при кормлении пчел медом или пыльцой из зараженных популяций. Эта практика используется некоторыми пчеловодами для спасения семей, чтобы помочь им выжить в периоды скудного цветения (Shen et al., 2005).



Рисунок 9. Усыхающая личинка, погибшая от вируса мешотчатого расплода (SBV) (<https://www.skagitvalleybeekeepers.org/101/sacbrood2.jpg>).

Вирус SBV был обнаружен у большого количества взрослых пчел из пасек, зараженных *V. destructor* (Antunez et al., 2006). В данном эктопаразите были обнаружены высокие титры вируса, особенно в ротовом аппарате и в

пищеварительном тракте (Chantawannakul et al., 2006). Отмечена положительная корреляция между распространенностью SBV в клещевых образцах и наличием SBV в образцах взрослых пчел (Tentcheva et al., 2004). Это позволило авторам выдвинуть гипотезу о возможной роли клеща *Varroa* в качестве переносчика заболевания. Однако необходимы дальнейшие исследования для выяснения роли клеща *Varroa* в качестве носителя при передаче SBV.

Частота заболевания SBV значительно выше в течение весны, в сезон расплода, когда появляется большое количество восприимчивых личинок и молодых особей (Bereneyi et al., 2006). Действительно, в течение весны богатые источники пищи, пыльца и нектар стимулируют расплод. Сезонное варьирование уровня SBV-инфекции, наблюдаемое как у взрослых особей, так и у куколок, также может отражать изменение окружающей среды, например, качество пыльцы и температурные колебания (Li et al., 2019).

1.10. Вирус черных маточников

Вирус черных маточников (BQCV) первоначально был выделен из личинок и куколок мертвых маток, запечатанных в их ячейках (Bailey and Woods, 1974) и оказался наиболее распространенной причиной гибели маточных личинок в Австралии (Benjeddou et al., 2001). Инфекция BQCV была обнаружена также в Америке, Европе, Азии, Африке и на Ближнем Востоке (Ellis and Munn, 2005). В зараженных колониях BQCV более распространен у взрослых пчел, чем куколок, хотя клинически он затрагивает в основном развитые личинки и куколки маток, которые представляют собой первичных хозяев вируса. Эти личинки приобретают бледно-желтый вид и жесткую мешотчатую кожу, аналогичную симптомам, вызванным вирусом SBV, куколки становятся черными (рис.10). Такое название было получено вирусом из-за затемненных областей на стенках клеток инфицированных куколок; внутри погибших куколок находится большее количество вирусных частиц (Leat et al., 2000).

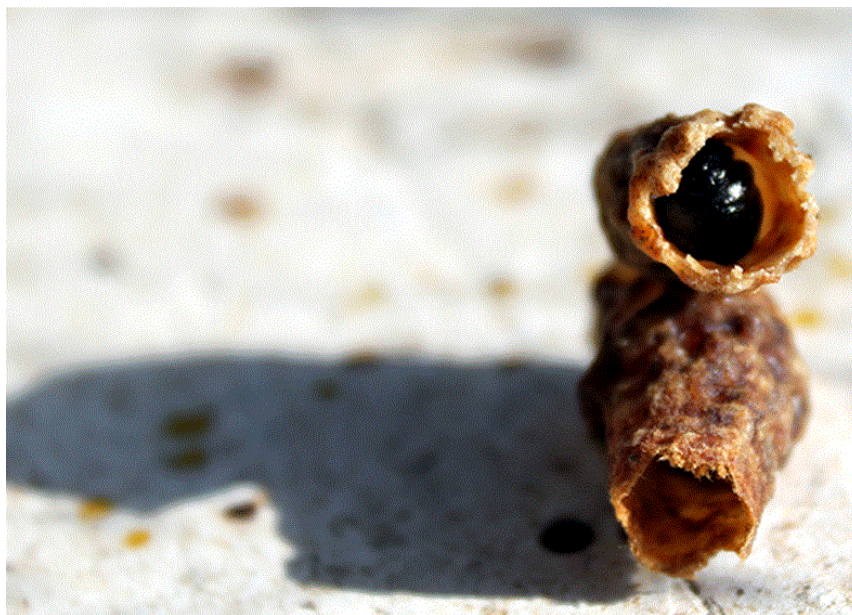


Рисунок 10. Личинка матки, пораженная вирусом черных маточников (BQCV) (<https://beekeepclub.com/wp-content/uploads/2020/05/Black-Queen-Cell-Virus.jpg>).

При экспериментальных исследованиях было обнаружено, что этот вирус быстро размножается при непосредственном введении в куколку (Leat et al., 2000). Тем не менее, вирус черных маточников способен размножаться и во взрослых особях, если переносится простейшим *Nosema apis* (Tentcheva et al., 2004). *Nosema* – микроспоридия, поражающая ткани кишечника взрослых пчел и увеличивающая восприимчивость этого органа к вирусу BQCV. Действительно, наблюдается четкая корреляция между частотой BQCV и зараженностью *Nosema apis* в пчелиных колониях с пиком заражения, приходящимся на весну и раннее лето (Benjeddou et al., 2001). Эти данные свидетельствуют о том, что именно вирус BQCV может быть причиной гибели пчел, зараженных этим паразитом.

BQCV способен распространяться и среди здоровых трутней или куколок рабочих пчел (Benjeddou et al., 2001). Вирусные частицы выявлены в фекалиях и в тканях кишечника матки (Chen et al., 2006), что доказывает передачу этого вируса через пищу. Следовательно, возможно инфицирование расплода матки через железистые выделения зараженных пчел-нянек во время кормления. На сегодняшний день имеются противоречивые данные о роли *V. destructor* в этой

инфекции. При исследовании образцов клещей *Varroa*, собранных на тайских пасаках (Chantawannakul et al., 2006), вирус черных маточников не был обнаружен ни в одном из образцов.

1.11. Вирус острого паралича

Вирус острого паралича пчел (ABPV) впервые был обнаружен во время лабораторных экспериментов как возможная причина бессимптомной инфекции взрослых особей пчел. Вирус является довольно распространенным инфекционным агентом пчел, часто обнаруживается во внешне здоровых семьях по всему миру (Sanra and Chantawannakul, 2009). Эти инфекции иногда усугубляются и активируются стрессовыми факторами окружающей среды, такими как заражение клещами, бактериальные инфекции, загрязнение и обычное использование химических веществ и инсектицидов в сельскохозяйственных технологиях (Bakonyi et al., 2002). Активная инфекция ABPV характеризуется быстрой смертью взрослых особей; ранее инфицированные взрослые пчелы демонстрируют быстро прогрессирующий паралич, дрожание тела, теряют способность к полету; брюшко постепенно темнеет, отмечается потеря волосков с груди и брюшка (рис.11) (de Miranda et al., 2010).



Рисунок 11. Пчелы, погибшие от вируса острого паралича (ABPV)
(<https://forumfermer.ru/wp-content/uploads/0/9/1/091c4be41793c030adf89706358fb5a6.jpeg>).

ABPV поражает *Apis mellifera* на всех стадиях развития, но наиболее благоприятными хозяевами для размножения вируса являются куколки (Sanra and Chantawannakul, 2009). Отмечено накопление вирусных частиц в головном мозге, особенно в гипофарингиальных железах, и в фекалиях (de Miranda et al., 2010). Это подтверждает передачу вируса через пищу и через секрет слюнных желез инфицированных рабочих пчел при кормлении молодых личинок. Зараженные личинки либо умирают еще до распечатывания в ячейках расплода, если в их организм попало большое количество вирусных частиц, либо выживают, чтобы появиться в виде условно здоровых, но инфицированных взрослых особей. Выявление последовательностей вируса ABPV в сперме внешне здоровых трутней указывает на вероятность венерической передачи этого вируса (Yue et al., 2006).

ABPV рассматривается как основной фактор, способствующий гибели пчел, зараженных клещом *Varroa destructor*, а также является основной причиной смертности в ослабленных колониях из Германии, Югославии, Франции, Венгрии и США (Forgách et al., 2007). Кроме того, в нескольких исследованиях ABPV был выявлен у клещей *Varroa* (Chantawannakul et al., 2006).

В течение последнего десятилетия из-за широкого распространения клещей на европейских пасеках, широко распространился и вирус острого паралича. Паразитарный клещ играет решающую роль в распространении этого вируса как в виде переносчика, так и в качестве активатора вирусной инфекции, ослабляющего пчел (Berènyi et al., 2006).

1.12. Кашмирский вирус

Кашмирский вирус KBV широко распространен в Австралии и в Соединенных Штатах, где является эндемичным. В Европе он встречается редко (Berènyi et al., 2006). Как и большинство *Dicistroviridae* (de Miranda et al., 2010), KBV сохраняется в низких титрах в скрытой форме во внешне здоровых семьях до тех пор, пока стрессовые факторы не активируют вирусную репликацию, впоследствии вызывающую гибель семей В активной форме кашмирский вирус поражает различные стадии развития пчел без четко выраженных симптомов заболевания. В последнее десятилетие этот потенциально смертельный вирус приобретает все большую значимость для пчеловодов, поскольку является одним из нескольких вирусов, тесно связанных с синдромом разрушения пчелиных семей на пасеках, зараженных клещом *V. destructor* (Pettis et al., 2008; de Miranda et al., 2010).

В ходе экспериментов кашмирский вирус проявил себя как чрезвычайно летальный и для личинок, и для взрослых особей: для гибели в течение нескольких дней достаточно менее ста вирусных частиц на пчелу (Ribière et al., 2008). В естественных условиях KBV может передаваться различными путями (Shen et al., 2005). Вирусные частицы были обнаружены в пище расплода, меде, маточном молочке и фекалиях, что подтверждает передачу инфекции в семье орально-фекальным путем через зараженные пищевые ресурсы (de Miranda et al., 2010). Детекция последовательностей вирусного генома в слюнном секрете

клещей *Varroa* предполагает, что паразит может выступать в качестве переносчика KBV (Shen et al., 2005).

KBV генетически и серологически тесно связан с ABPV, оба этих вируса были дополнительно обнаружены во время исследований передачи вируса хронического паралича CBPV (de Miranda et al., 2004). Вероятно, эти два вируса происходят от общего предка и эволюционировали независимо в географически изолированных регионах (Berényi et al., 2006). Последовательности аминокислот KBV и IAPV совпадают на 96%, сходства нуклеотидных последовательностей ниже - 70% (Baker and Schroeder, 2008). Оба вируса способны инфицировать одну и ту же семью или даже особь одновременно, при этом KBV признан более эффективным исходя из скорости репликации (Guo et al., 2020). Несмотря на тесную связь, их можно легко выделить и отличить друг от друга с помощью ПЦР в режиме реального времени, а белки VP4 вирусов ABPV и KBV серологически различаются. Между двумя вирусами существуют еще и значительные отличия в таких важных областях генома, как 5'-нетранслируемая область (de Miranda et al., 2004).

В последние годы вирус рассматривается как один из важных маркеров синдрома разрушения пчелиной колонии (CCD) (Pettis, 2008).

1.13. Вирус израильского паралича

Вирус израильского острого паралича (IAPV) впервые был выделен в 2004 году на израильских пасеках, где вызвал колоссальную гибель пчел и нанес серьезный урон израильскому пчеловодству. Анализ последовательности генома IAPV показал, что он является новым членом семейства *Dicistroviridae* (Blanchard et al., 2008), тесно связанным с KBV и ABPV. Помимо их близких генетических отношений, они имеют несколько сходных характеристик, таких как стадия жизни хозяина и широкая распространенность среди бессимптомных инфекций, что контрастирует с высокой вирулентностью в экспериментальных исследованиях (de Miranda et al., 2010). Несмотря на высокую гомологию между

этими тремя вирусами, IAPV обладает значительными генетическими и серологическими отличиями (Maori et al., 2007).

Помимо Израиля, IAPV широко распространен в Австралии и в нескольких штатах США, таких как Флорида, Калифорния, Мэриленд и Пенсильвания (Palacios et al., 2008). В естественных условиях IAPV сохраняется в семьях в низких титрах без явных симптомов. В стрессовых условиях иммунитет медоносных пчел падает, что приводит к активации инфекции и гибели пчел. Смерти зараженных взрослых особей предшествует быстро прогрессирующий паралич, потеря способности к полету и потемнение тела (Ribière et al., 2008). Вирус присутствует почти во всех тканях, однако наибольший титр обнаруживается в нервной системе, гипофарингеальных железах и кишечнике (Ullah et al., 2021).

1.14. Вирус хронического паралича

Вирус хронического паралича (CBPV) является неклассифицированным вирусом с (+)РНК-геномом. В отличие от большинства вирусов пчел, он вызывает яркие специфические симптомы, позволяющие дифференцировать инфекцию CBPV среди остальных вирусных заболеваний *Apis mellifera*. Вирус поражает центральную нервную систему, пчелы теряют способность летать, они ползают рядом с ульем, их тело и крылья дрожат. Параличу сопутствует выпадение волосков, что делает пчел более темными на вид, из-за чего пчелы-охранники не узнают их и атакуют (Ribiere et al., 2010).

Больные пчелы погибают в течение нескольких дней, однако CBPV, как и многие другие, может сохраняться в семье в течение долгого времени, проявляясь лишь при воздействии стрессовых факторов, таких как дефицит питания, плохие погодные условия и т.д. Заражение вирусом происходит при контакте пчел внутри семьи, через раны и пищу (Youssef et al., 2015).

1.15. Заключение

Продолжающееся сокращение количества семей пчел в России, США и странах Европы стало предметом широкого обсуждения и беспокойства. Основываясь на многих исследованиях, направленных на выявление всех предполагаемых факторов, поражающих пчел, накапливаются доказательства того, что одной из основных причин потерь семей является распространение вирусов пчел. Для предотвращения дальнейшего распространения инфекций необходимы превентивные меры и своевременная диагностика вирусов пчел во избежание глобальной катастрофы.

В качестве перспективного метода борьбы с вирусами у инфицированных пчел рассматривается РНК-интерференция. Для активации данного механизма необходима дцРНК, образуемая во время вирусной репликации. При этом специальный фермент DICER захватывает РНК и нарезает ее на фрагменты длиной 21-22 нуклеотида. Такие фрагменты называются малыми интерферирующими РНК (siRNA). Затем эти РНК захватываются белковым комплексом RISC. Одноцепочечная РНК в составе RISC служит направляющей. Комплекс связывает участок мРНК, комплементарный фрагменту, а эндонуклеаза Argonaute разрезает эту молекулу РНК (Remnant et al, 2017).

В последних работах отмечается возможность трансформации бактерий для производства двухцепочечных РНК-мишеней определенной последовательности и перенос этих бактерий в организм пчелы через кормление. Такие бактерии продолжают размножаться в кишечнике пчел и постепенно становятся частью микробиоты. В контрольном эксперименте при трансформации бактерий РНК относительно DWV выживаемость пчел повышалась почти в 2 раза (Leonard et al. 2020).

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Образцы

В ходе исследования было проанализировано 437 пчелиных семей карпатской породы из различных регионов России: Архангельской, Белгородской, Владимирской, Вологодской, Воронежской, Московской, Пензенской, Ростовской, Рязанской, Тверской областей, Красноярского и Краснодарского края. Образцы были получены из Московской Государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии имени К. И. Скрябина. Пчелиные семьи транспортировали в лабораторию живыми в отдельных одноразовых пластиковых контейнерах и замораживали при температуре -30°C до востребования.

2.2. Выделение РНК

Для выделения тотальной РНК из каждой семьи отбирали 30 пчел и растирали в ступке на холоде до гомогенного состояния. От полученного гомогената отбирали 100 мг для выделения РНК. Оставшуюся массу замораживали при -70°C для возможного дальнейшего использования. Для лизиса клеток использовали реагент Extract RNA (ЗАО «Евроген», Россия). Выделение осуществляли согласно протоколу производителя. Добавленный к образцу реагент моментально лизирует клетки, при этом целостность РНК сохраняется за счет высокоэффективного ингибирования активности РНКаз. В процессе денатурации все клеточные компоненты переходят в гомогенат, а затем, после добавления хлороформа и последующего центрифугирования, эмульсия разделяется на водную фазу, интерфазу и органическую фазу, при этом РНК, ДНК и белки оказываются в разных фазах. Для полного удаления ДНК из образцов РНК проводили инкубацию в присутствии ДНКазы. Полученный осадок РНК подсушивали при комнатной температуре и растворяли в

стерильной деионизированной воде, определяли концентрацию РНК и её чистоту с использованием спектрофотометра NanoDrop 1000 (Thermo Scientific, США).

2.3. Обратная транскрипция

Далее проводили реакцию обратной транскрипции. Синтез первой цепи кДНК на РНК-матрице осуществляли с использованием обратной транскриптазы вируса лейкемии мышей (MMLV-ревертаза) в составе набора MMLV RT kit (ЗАО «Евроген», Россия). Для получения кДНК в качестве праймера брали случайный декануклеотидный праймер. Выход тотальной кДНК при использовании такого праймера высокий, но при этом синтезируются небольшие фрагменты кДНК (до 1000 п. о.), кроме того, синтез происходит на любой РНК-матрице, в том числе на не полиаденилированной. Реакцию обратной транскрипции проводили на приборе Bio-Rad MyCycler (США). Готовые образцы кДНК хранили при -70°C .

2.4. Дизайн высокоспецифичных праймеров

Для проведения ПЦР использовали праймеры, сконструированные в нашей лаборатории. В отличие от сходных работ зарубежных коллег, мы подобрали высокоспецифичные праймеры к консервативным последовательностям гена *RdRp* вирусов.

Основные этапы конструирования праймеров:

- 1) В банке аннотированных нуклеотидных последовательностей GenBank Национального Центра Биотехнологической Информации США (GenBank NCBI USA) производился поиск нуклеотидных последовательностей искомого гена

RdRp. Внутри штамма последовательность будет одной и той же, между штаммами наблюдается слабо выраженная вариабельность.

2) Затем осуществляется поиск нуклеотидных последовательностей, гомологичных заданной, методом глобального попарного выравнивания (global pairwise alignment) on-line сервисом nucleotide BLAST.

3) В нашем случае, при большом количестве последовательностей, осуществлялось множественное выравнивание программой ClustalW. Программа проводила поиск участков, наиболее общих для всех найденных индивидуальных последовательностей (консервативных участков), а также участков каждой последовательности, присущих только одной из них (вариабельных и уникальных участков) с использованием глобального множественного выравнивания (global multiple alignment) с целью подбора участков нуклеотидных последовательностей, которые можно будет использовать как прямой и обратный праймеры.

4) Конструировали праймеры к выбранной уникальной последовательности. При подборе учитывали такие параметры, как температура отжига, нуклеотидный состав праймеров (процентное содержание оснований G-C), распределение нуклеотидов по длине праймера, длину праймеров (15-25), возможность образования праймерами шпилек и димеров. Температуру отжига праймеров подбирали экспериментальным путем.

5) Праймеры, даже абсолютно уникальные для тех или иных последовательностей ДНК, могут отжигаться и на неспецифичных участках, не относящихся к анализируемому гену. Поэтому следует убедиться в том, что праймеры соответствуют только последовательностям целевого гена. Для этого проводили контрольную проверку выбранных последовательностей праймеров на специфичность отжига в программе Primer BLAST, осуществляющей локальное попарное выравнивание каждого из праймеров с нуклеотидными последовательностями базы данных. Список подобранных праймеров приведен в Таблице 1.

Таблица 1. Последовательности подобранных высокоспецифичных олигонуклеотидов (праймеров).

Название	Последовательность, 5'→3'	Температура отжига, °С	Длина продукта, п.н.
ABPV-F	TGTGATGTGGGTAGATACATT	53	300
ABPV-R	CATAATGCAAACATTCAAAGATC	55	
DWV-F	ACATTTTGAATACTATTTTCGAATTG	54	410
DWV-R	TAACGCTTGTTTAGCATTCTTC	52	
SBV-F	GATAGAGGCGTATACCTTATTG	54	600
SBV-R	ATGCTTTGTTCACTTGTTGCTTAAAT	53	
BQCV-F	GACGAAAGGAAGCCTAAACATAA	54	420
BQCV-R	GGAAGAGACTTGCACCATTG	55	
KBV-F	GATGAACGTTCGACCTATTG	53	414
KBV-R	TGTGGGTGGCTATGAGTC	55	
IAPV-F	TATGTATGGACACAATTCTTGA	53	716
IAPV-R	GTAGTTCCAGCAATGATCTC	54	
CBPV-F	AGTTGTCATGGTTAACAGGATAC	54	455
CBPV-R	TCTAATCTTAGCACGAAAGCC	54	

2.5. Проведение полимеразной цепной реакции

ПЦР проводили со специфичными, подобранными в нашей лаборатории праймерами. Для постановки ПЦР на стадии пробоподготовки составлена смесь из компонентов в следующем соотношении:

- 2 µл 10X реакционного буфера;

- 0.5 μ л Taq-полимеразы;
- 0.4 μ л 50X dNTP (10mmol);
- 1 μ л F-праймера (10 pmol);
- 1 μ л R-праймера (10 pmol);
- 14.1 μ л H₂O;
- 1 μ л ДНК.

Условия проведения реакции подбирались экспериментально.

Этапы и условия проведения реакции:

- 1) Начальная денатурация (3 мин, 94°C).
- 2) 35-40 циклов, включающих в себя:
 - денатурацию (10 с, 94°C);
 - отжиг праймеров (30 с, температура отжига варьируется в зависимости от пары праймеров);
 - элонгацию (20 с, 72°C);
- 3) Элонгация недосинтезированных продуктов (5 мин, 72°C).

Реакцию проводили в амплификаторе T100 thermal cycler фирмы Bio-Rad (США).

Последующую детекцию продуктов амплификации проводили с помощью гель-электрофореза в 2%-ном агарозном геле.

2.6. Подготовка образцов к секвенированию

Для сравнения изолятов вирусов разных регионов с последующим филогенетическим анализом проведено секвенирование фрагментов вирусного генома с помощью полученных праймеров. Для этого на первом этапе проведена амплификация фрагментов исследуемых вирусов с последующей детекцией продуктов в агарозном 2%-ном геле. Проводилась очистка фрагментов ДНК из геля с помощью фильтрации на колонках коммерческим набором Cleanup Standard (ЗАО «Евроген», Россия). На колонке связывалась только

двухцепочечная ДНК, а соли, ферменты, РНК и одноцепочечная ДНК оставались в промывочном растворе. Выделение фрагментов ДНК проводилось согласно протоколу производителя.

Выделенная и очищенная ДНК использовалась для секвенирования по Сэнгеру, которое осуществлялось в коммерческой компании ЗАО «Евроген», Россия. Обработка полученных данных выполнялась в программе Geneious, сравнение полученных последовательностей с последовательностями из базы данных проводилось с помощью Nucleotide BLAST. Филогенетические деревья строились в программе Mega 8.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Детекция вирусов в колониях пчел

Для определения вирусоносительства в пчелиных семьях анализировали электрофореграммы фрагментов кДНК вирусов. Вирусоносительство подтверждалось наличием фрагмента соответствующей длины (рис.12.).

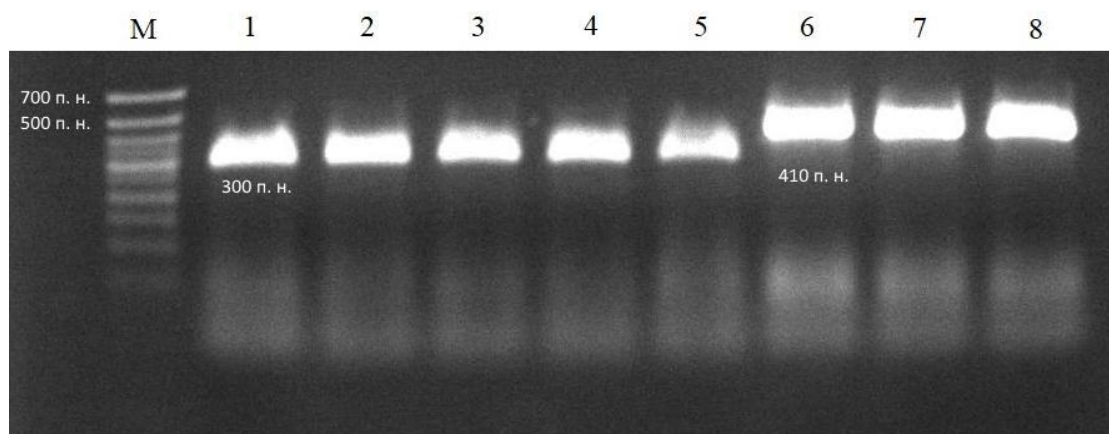


Рисунок 12. Электрофореграмма продуктов амплификации вирусов острого паралича и деформации крыла (ABPV и DWV). На рисунке представлены образцы из Рязанской области, Шацкого района. М-маркер 50 п.о., лунки 1-5 – образцы с амплифицированным фрагментом ABPV, лунки 6-8 – фрагмент DWV.

Израильский вирус острого паралича в регионах России распространен слабо и является сравнительно новым возбудителем по сравнению со всеми остальными вирусами. На европейской части Российской Федерации наибольшая зараженность этим вирусом установлена на пасеках Белгородской области, затем Воронежской. Небольшое количество пчелиных семей также заражено в Архангельской и Рязанской областях (Табл.2). Построенная карта распространения вируса представлена на рисунке 13.

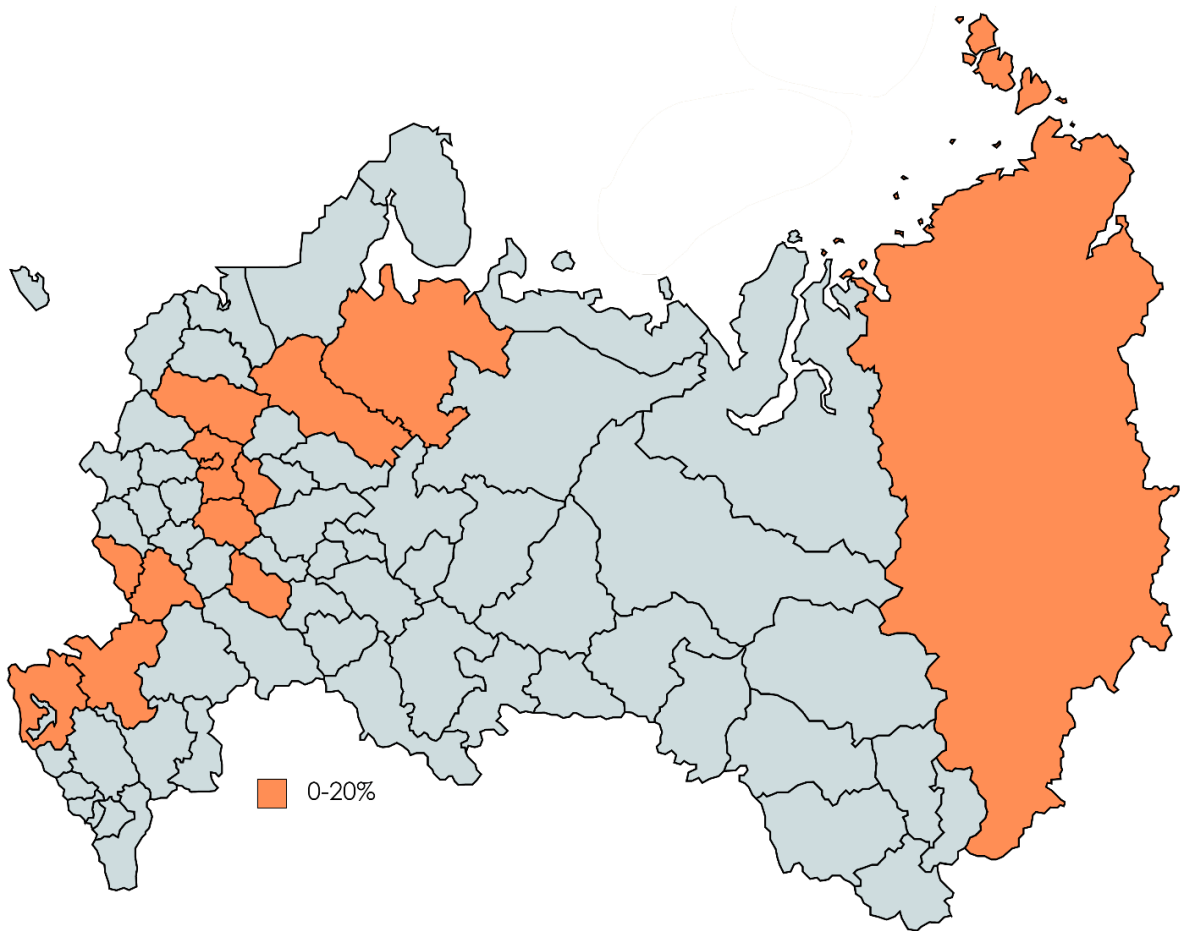


Рисунок 13. Карта распространности вируса IAPV. В матрице указана частота встречаемости вируса в различных областях в процентах.

Вирус деформации крыла (DWV) распространен практически повсеместно. Это второй по распространенности вирус после вируса острого паралича (ABPV). Наименьшая вирусная нагрузка показана для Архангельской и Воронежской областей; в Ростовской области вирусом деформации крыла заражено более двух третей пчелиных семей. Также DWV является вторым (из двух) вирусов, обнаруженных в Красноярском крае (Табл. 2). Карта распространности вируса, построенная на основе данных, представлена на рисунке 14.

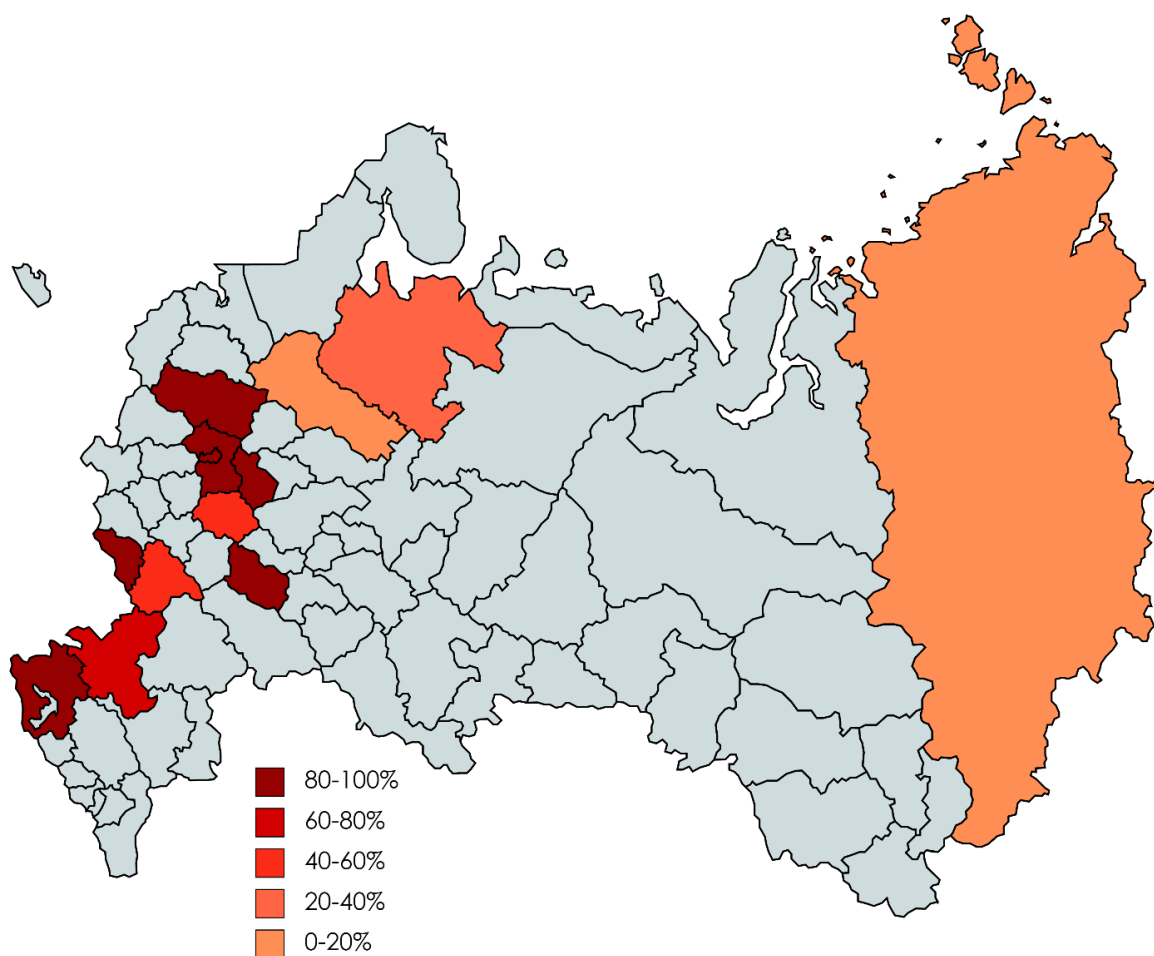


Рисунок 14. Карта распространности вируса DWV. В матрице указана частота встречаемости вируса в различных областях в процентах.

Первый по распространности среди всех вирусов – вирус острого паралича (ABPV). Распространен возбудитель почти повсеместно, за исключением некоторых семей в Ростовской, Белгородской областях и Красноярском крае (Табл. 2). При этом на исследованных пасеках Краснодарского края ABPV остается самым распространенным вирусом из всех. Карта распространности вируса, построенная на основе данных, представлена на рисунке 15.

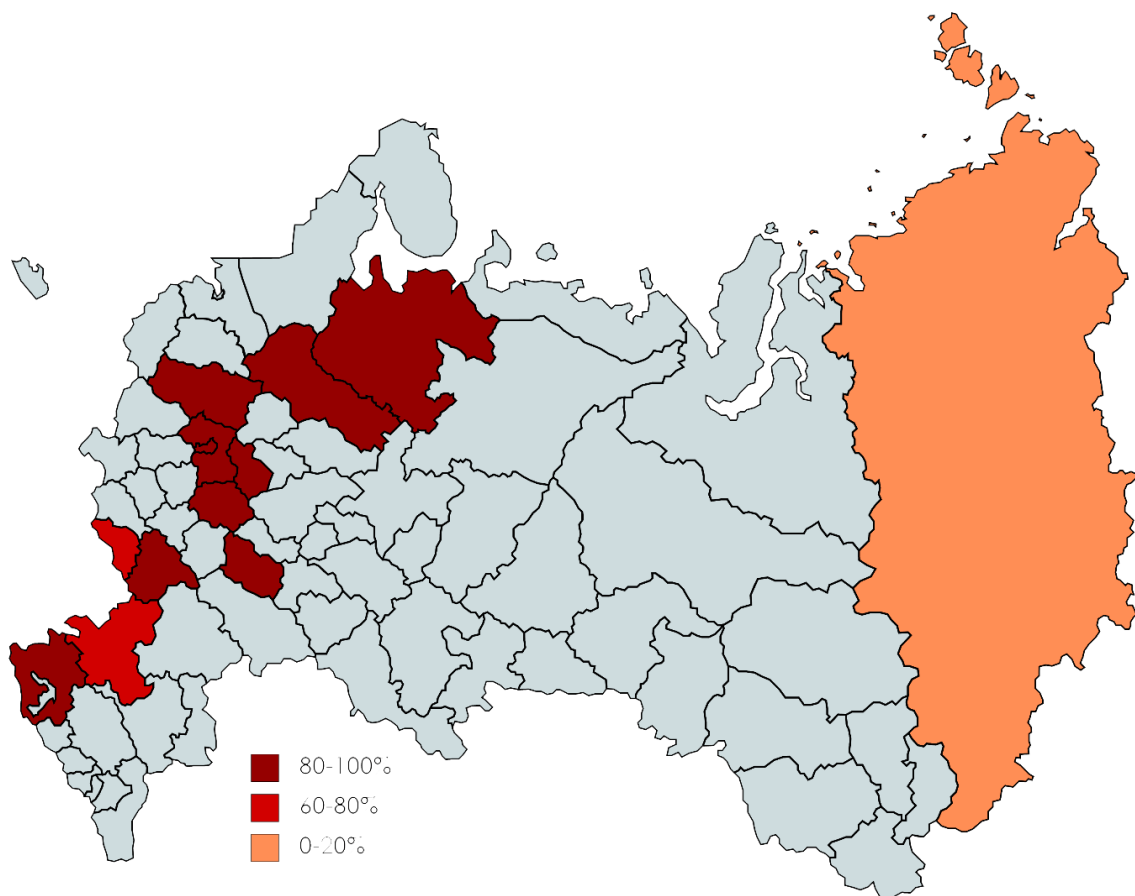


Рисунок 15. Карта распространности вируса ABPV. В матрице указана частота встречаемости вируса в различных областях в процентах.

Вирус BQCV также широко распространен на европейской части России. Частицы вируса черных маточников не были обнаружены только в пчелиных семьях деревни Костинской Архангельской области и в Пензенской области, также полностью отсутствовал вирус в Красноярском крае (Табл.2). Карта распространности изображена на рисунке 16.

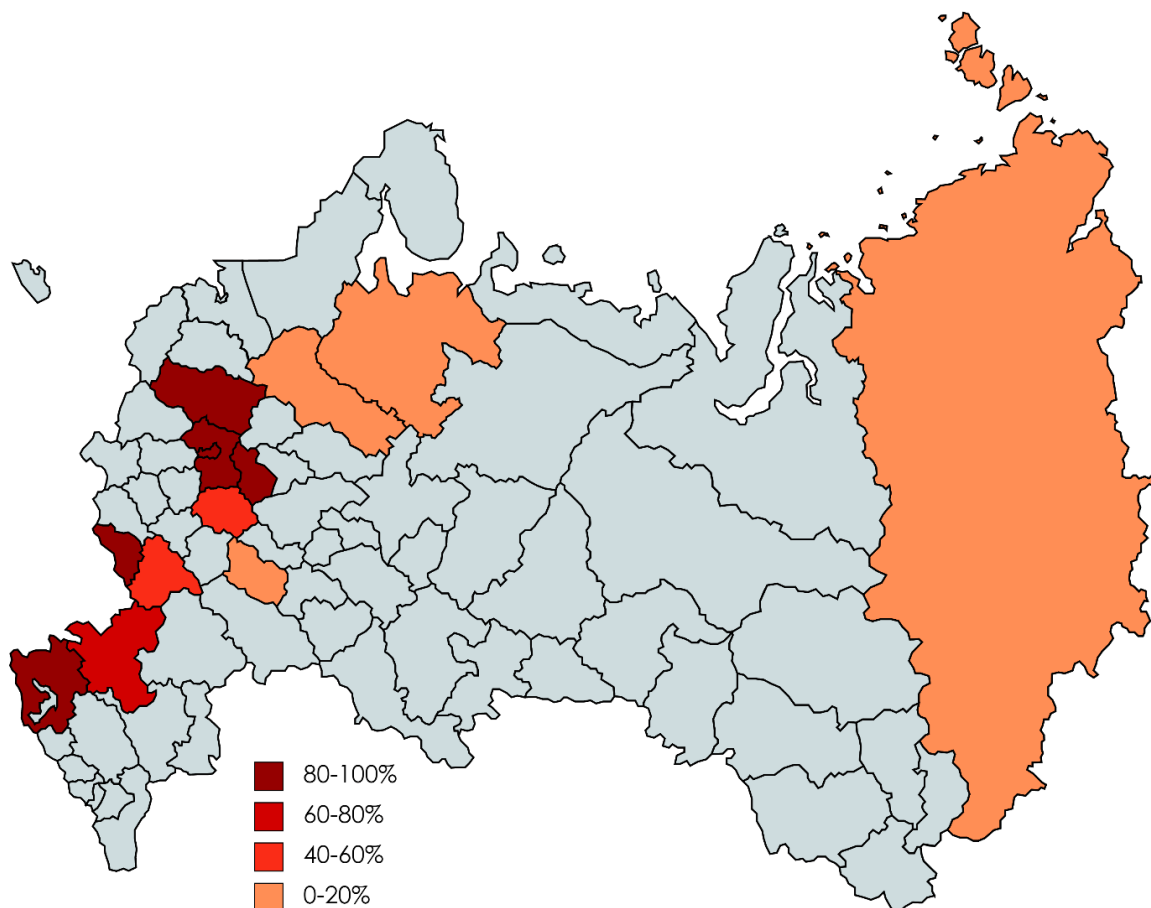


Рисунок 16. Карта распространённости вируса BQCV. В матрице указана частота встречаемости вируса в различных областях в процентах.

Вирус мешотчатого расплода (SBV) является средним по распространённости в России, но заражённость между областями может сильно варьироваться (Табл.2). В Белгородской области заражены все исследованные колонии пчел, в то время как в Архангельской области заражены около одной трети всех популяций, а в Красноярском крае вирус вообще не был выявлен. Карта распространённости вируса изображена на рисунке 17.

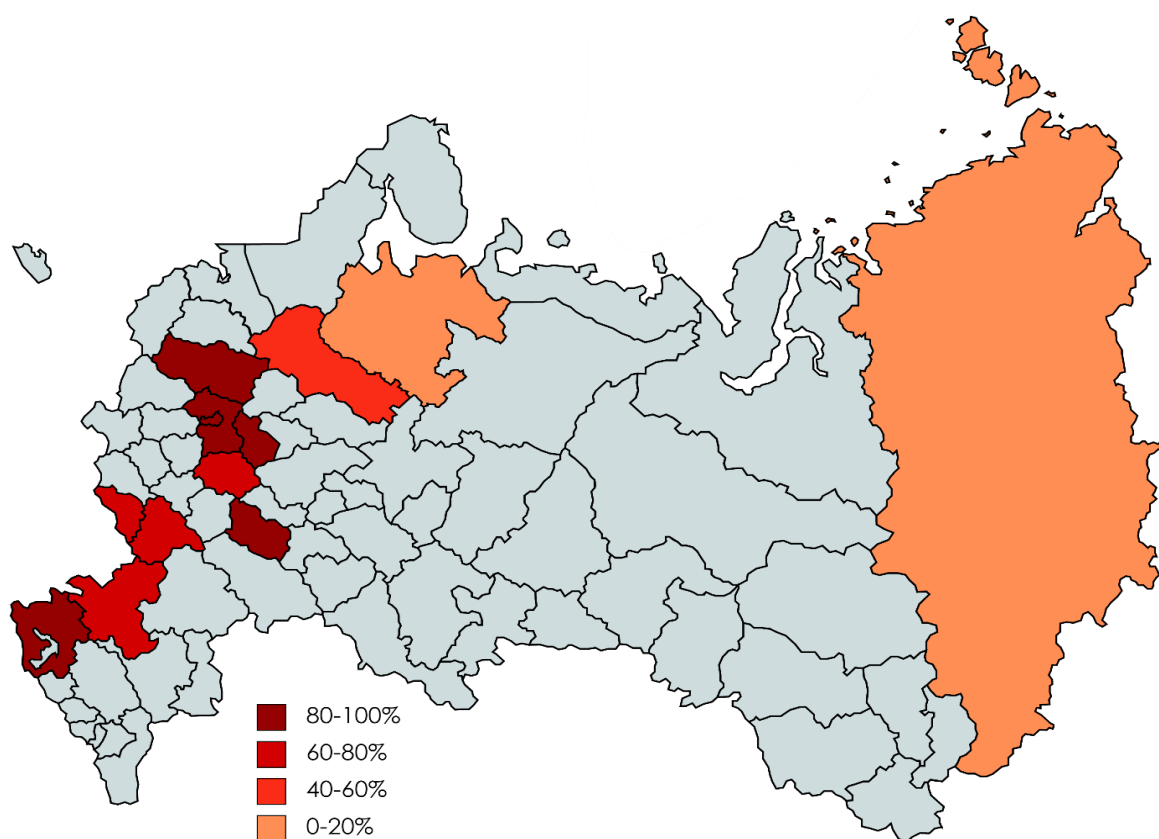


Рисунок 17. Карта распространности вируса SBV. В матрице указана частота встречаемости вируса в различных областях в процентах.

Кашмирский вирус KBV довольно редко встречается в российских регионах (Табл.2). Наибольшее количество пораженных инфекцией пчелиных семей находится в Белгородской области на уровне одной трети. Карта распространности вируса изображена на рисунке 18.

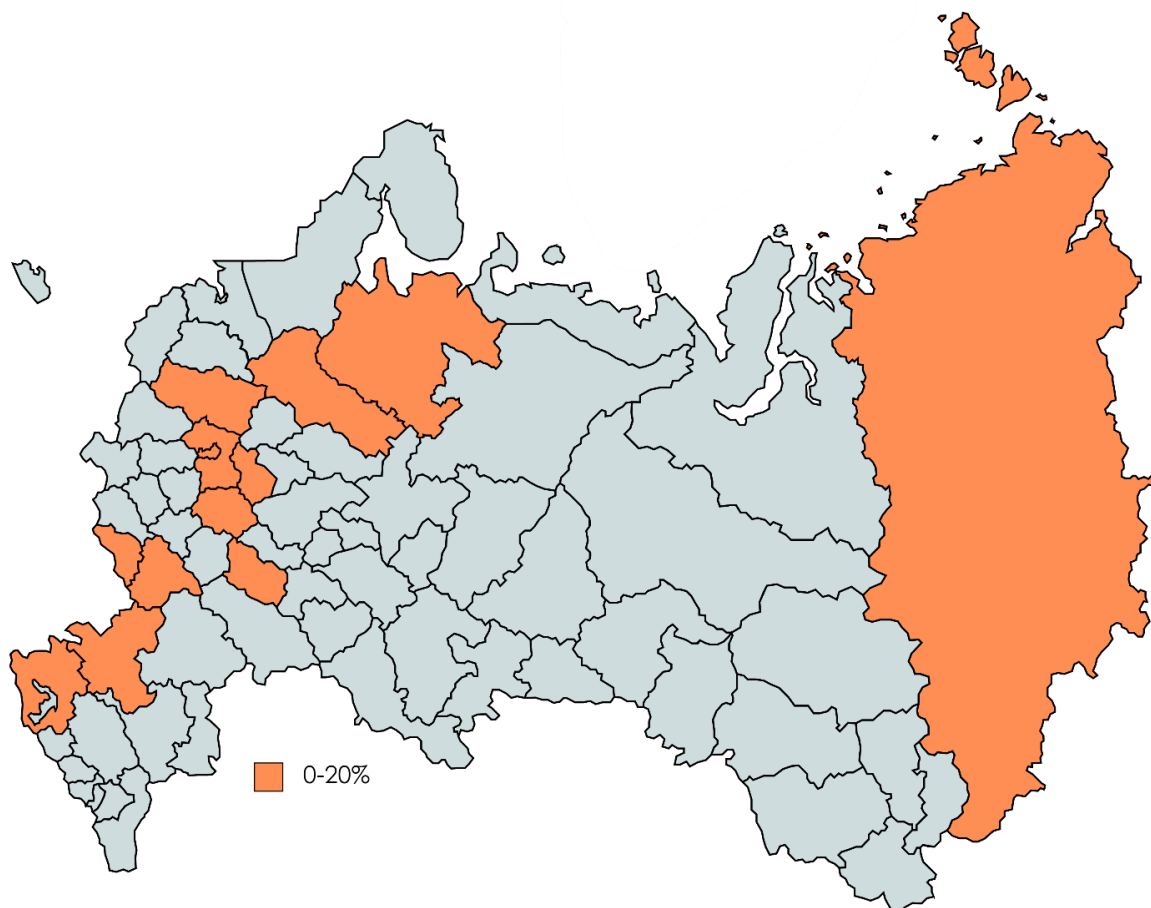


Рисунок 18. Карта распространности вируса KBV. В матрице указана частота встречаемости вируса в различных областях в процентах.

Вирус хронического паралича (CBPV) не был обнаружен ни в одной области. Наряду с кашмирским вирусом он является самым редким на территории России, однако по данным статьи отечественных коллег средняя встречаемость вируса CBPV по некоторым регионам составляла 11% (Калашников и Удина, 2017).

Таблица 2. Распространение вирусов пчел в разных регионах России.
Вирусоносительство указано в процентах.

Область, место	ABPV	SBV	DWV	BQCV	IAPV	KBV	CBPV
Архангельская, г. Вельск	100	31,4	17,1	28,6	0	11,4	0
Архангельская, п.о. Нагорская	100	21,9	6,3	15,6	15,6	3,1	0
Архангельская, д. Костинская	100	0	44,4	0	0	11,1	0
Белгородская, с.Ионовка	31,7	19,5	100	75,6	17,1	17,1	0
Белгородская, х.Кронштадт	100	100	100	100	7,9	7,9	0
Белгородская, кфх Биляченко	100	100	100	100	29,6	31,8	0
Владимирская	100	100	100	100	0	0	0
Вологодская	100	44,4	16,6	0	0	0	0
Воронежская, пос.Отрадное	100	51,7	6,9	10,3	17,2	0	0
Воронежская, Тепличная	100	82,8	79,3	79,3	3,5	0	0
Краснодарский край	100	100	100	100	0	7,7	0
Красноярский край	16,6	0	11,1	0	0	0	0
Московская	100	100	100	100	0	0	0
Пензенская	100	100	100	0	0	0	0
Ростовская, х. Ленина	100	40	40	20	0	0	0
Ростовская, пос.Чалтырь	62,5	81,3	81,3	75	0	0	0
Ростовская, пос.Недвичанка	64,3	83,3	85,7	71,4	0	0	0
Ростовская, Миллеровский р-он	16,7	91,7	86,1	86,1	2,8	5,6	0
Рязанская, пос.Карля	100	85	100	40	5	0	0
Рязанская, пос.Шевырляй	100	50	100	75	0	25	0
Тверская	100	100	100	100	0	0	0

Исходя из полученных данных, самым распространенным вирусом на территории России является вирус острого паралича (ABPV). Фрагмент вируса присутствует в образцах из всех регионов, в большинстве из них инфекцией поражены 100% исследуемых популяций пчел. Данные результаты соответствуют литературным данным о повсеместном распространении вируса острого паралича и о том, что в ряде случаев именно этот тип возбудителя мог являться причиной гибели всех семей пчел (Mullapudi et al., 2016).

Вирус деформации крыла (DWV) является вторым по распространенности вирусом на европейской части территории РФ. В Центральном Федеральном Округе вирус встречается во всех исследованных регионах в 100% случаев. Частота встречаемости снижена в Архангельской и Ростовской областях. Возможно, это связано с лучшей выживаемостью вируса в условиях умеренного климата.

Частота встречаемости вируса мешотчатого расплода (SBV) в исследуемых регионах еще ниже, чем ABPV и DWV, а в пчелиных семьях деревни Костинская Архангельской области вирус не выявлен даже в минимальных количествах. В целом вирус чаще представлен в южных регионах России, где заражено до 100% колоний пчел, по сравнению с более северными регионами.

Вирус черных маточников (BQCV) широко распространен в областях Центрального Федерального Округа, значительно ниже частота встречаемости в Ростовской и Архангельской областях. Вирус отсутствует в образцах из Пензенской области.

Израильский вирус острого паралича (IAPV) является нетипичным для российских регионов. Самая высокая частота присутствия вируса показана для Белгородской области, но и в ней она не превышает 30% (крестьянское (фермерское) хозяйство Биляченко). В большинстве регионов вирус полностью отсутствует.

Кашмирский вирус (KBV) также слабо представлен на территории России, но оценка распространенности показала большее присутствие вируса в северных регионах и почти полное отсутствие в южных. Данный характер распределения свидетельствует о возможно лучших условиях для размножения и распространения вируса при сниженных температурах и влажности.

По данным, собранным на основе оценки вирусоносительства пчелами, можно судить о широко распространенном на территории РФ явлении коинфекции, когда семьи пчел заражены несколькими вирусами одновременно. Чаще всего коинфекция представлена сразу четырьмя вирусами – острого паралича, мешотчатого расплода, деформации крыла и вируса черных маточников. Данные результаты получены для Белгородской, Владимирской, Московской, Тверской областей и Краснодарского края. Более того, во всех этих регионах вирусными инфекциями поражены все семьи пчел. Подобное явление часто связывают со снижением иммунитета пчелы при заражении одним вирусом, что влечет за собой заражение еще одним типом. Соответственно, при диагностике вирусных заболеваний необходимо проводить тестирование по всем вирусам-возбудителям заболеваний пчел.

3.2. Анализ данных секвенирования

После получения результатов секвенирования гена *RdRp* (44 участка) данные обрабатывали в нескольких программах. В первую очередь проводили сравнение последовательностей в программе Nucleotide BLAST (NCBI), которая демонстрирует процент гомологии искомой последовательности с последовательностями, уже содержащимися в базе данных. Также с помощью программы MEGA 8 были построены соответствующие филогенетические деревья, отражающие связь между типами вирусов различного географического происхождения.

По данным полученным по кашмирскому вирусу на территории России было выявлено три изолята вируса KBV с разных пасек. Два из них обладали

высокой степенью гомологии, третий отличался от двух других образцов по 6 позициям нуклеотидов (рис.19).

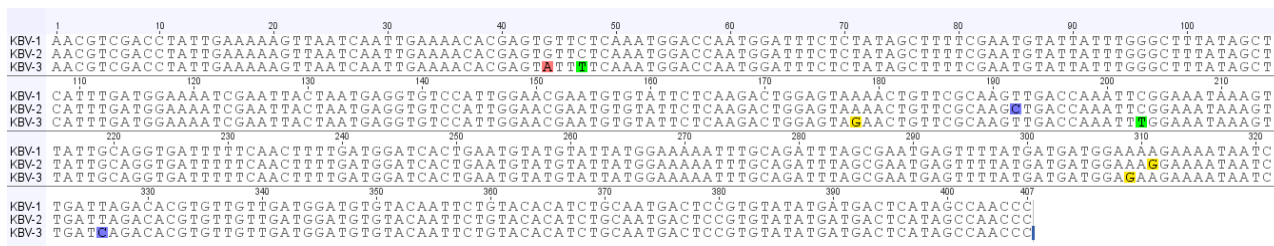


Рисунок 19. Выравнивание последовательностей RdRp KBV из Белгородской области России.

Обработка в BLAST также показала, что кашмирский вирус KBV имеет высокую гомологию (99%) с кашмирским вирусом из Южной Кореи (AN: EU770972.1) и Китая (AN: JX232601). Кроме того, отмечено сходство (до 98%) последовательности гена *RdRp* третьего изолята (KBV3) с образцом из Франции (рис. 20). Данный результат может свидетельствовать о том, что в РФ циркулируют два основных штамма, распространившихся из Азии и Европы.

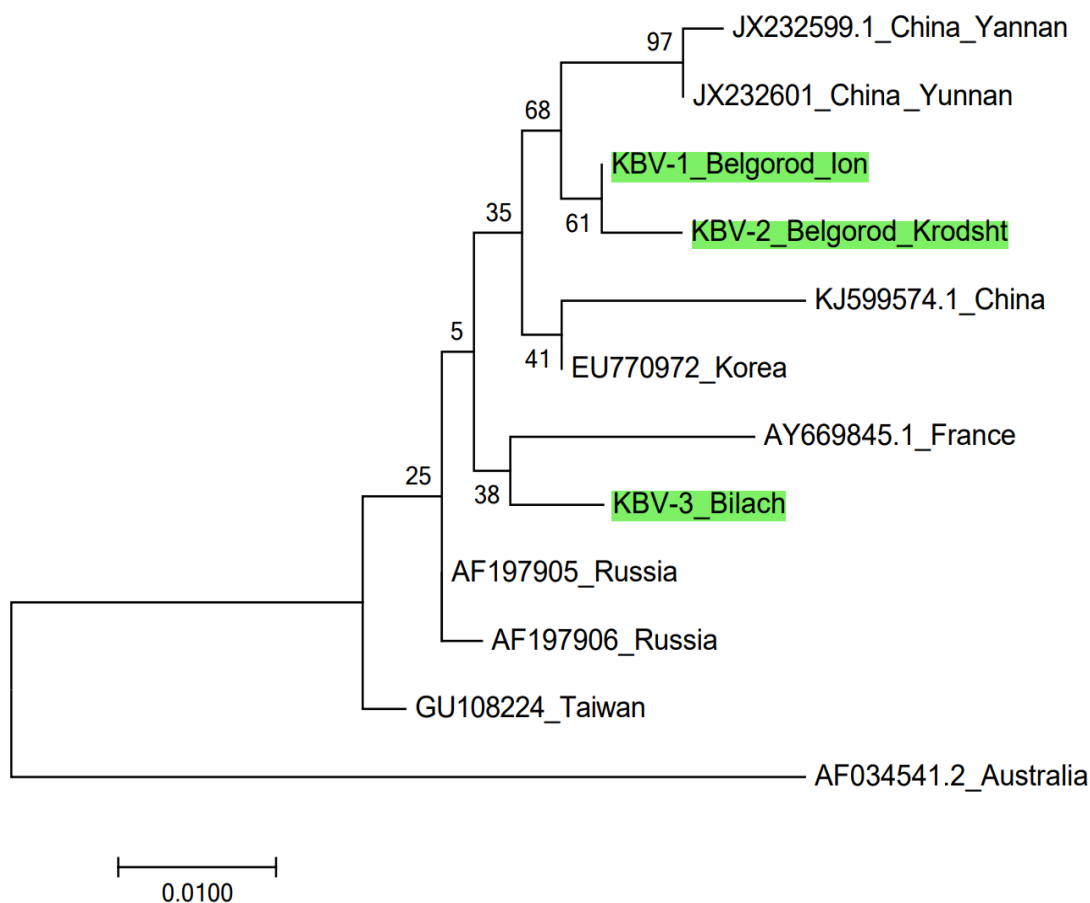


Рисунок 20. Филогенетическое дерево для кашмирского вируса (KBV)

Вирус мешотчатого расплода SBV по базе данных NCBI имеет высокую гомологию с вирусом SBV из Ставропольского Края, секвенированного в 2012 году (Lomakina, Vatuev, 2012). Полученные изоляты SBV обладают высокой степенью гомологии и имеют 18 позиций SNP. При этом только у российских изолятов наблюдались замены Т в 4, С в 29, С в 94, С в 249, С в 269 позициях (рис. 21).

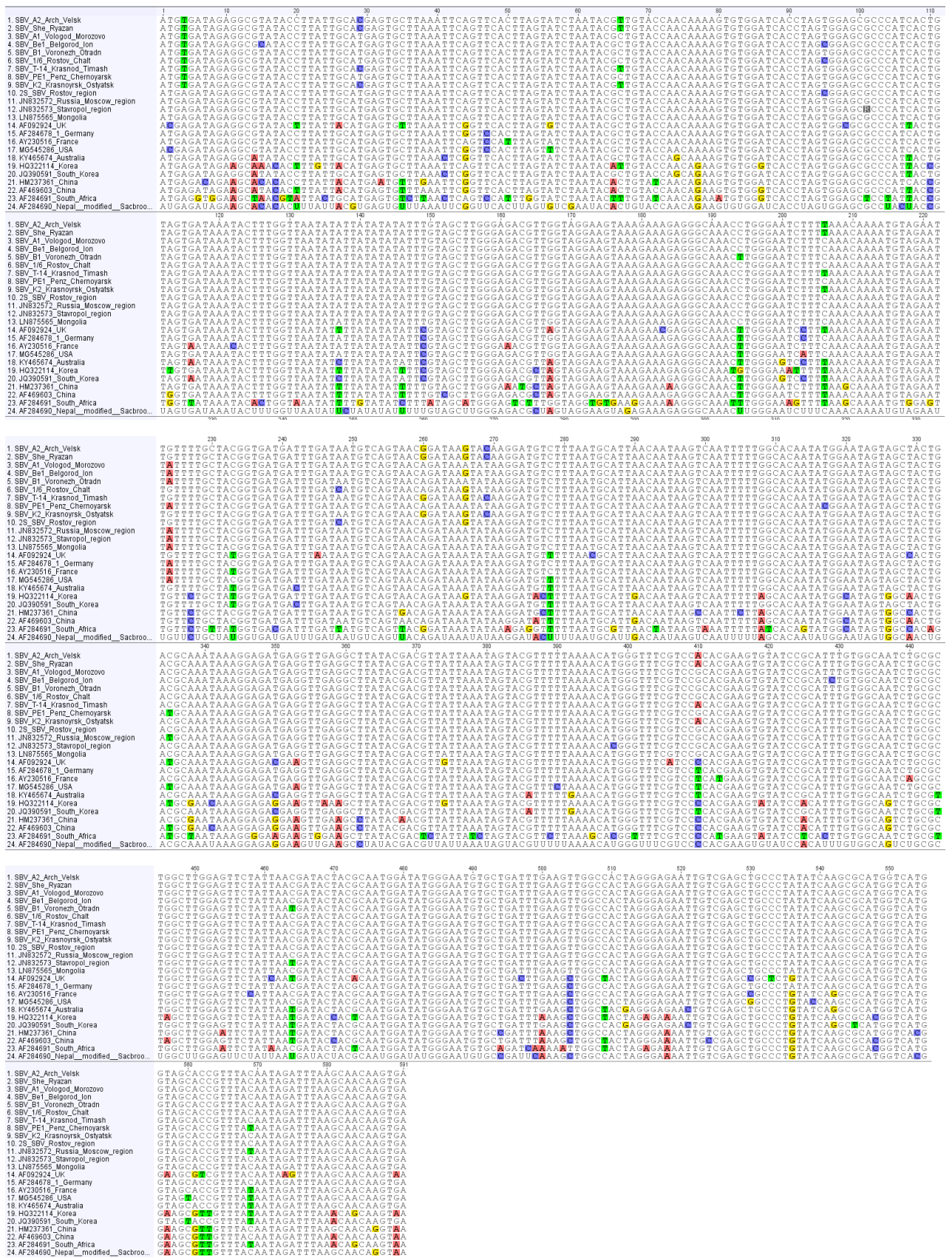


Рис. 21. Выравнивание последовательностей SBV с изолятами из других стран.

Все выделенные изоляты на филогенетическом дереве относятся к одной большой кладе, включающей также вариант из Монголии (AN: LN875565). С вирусами других регионов гомология сравнительно низкая (не более 88%) (рис. 22).

Все штаммы SBV объединяют в 3 больших группы – европейскую, азиатскую и южноафриканскую. В работе Ломакиной и Батуева российский изолят был также выделен в отдельную группу - 4 генотип, отличающийся от всех остальных (Ломакина и Батуев, 2012). Для одного из изолятов из Ростовской области, исследованных в данной работе, выявлена гомология (99%) с изолятом вируса SBV, полученным из Ставропольского края (г.Кисловодск) в работе Ломакиной в 2012 г. Эти данные могут свидетельствовать о дальнейшем распространении вируса по территории России от южных областей к более северным.

Вся клада близкородственна европейским изолятам (из Франции, Германии и Великобритании). Вероятнее всего, что SBV распространился из Европы в Россию, а далее в Монголию.

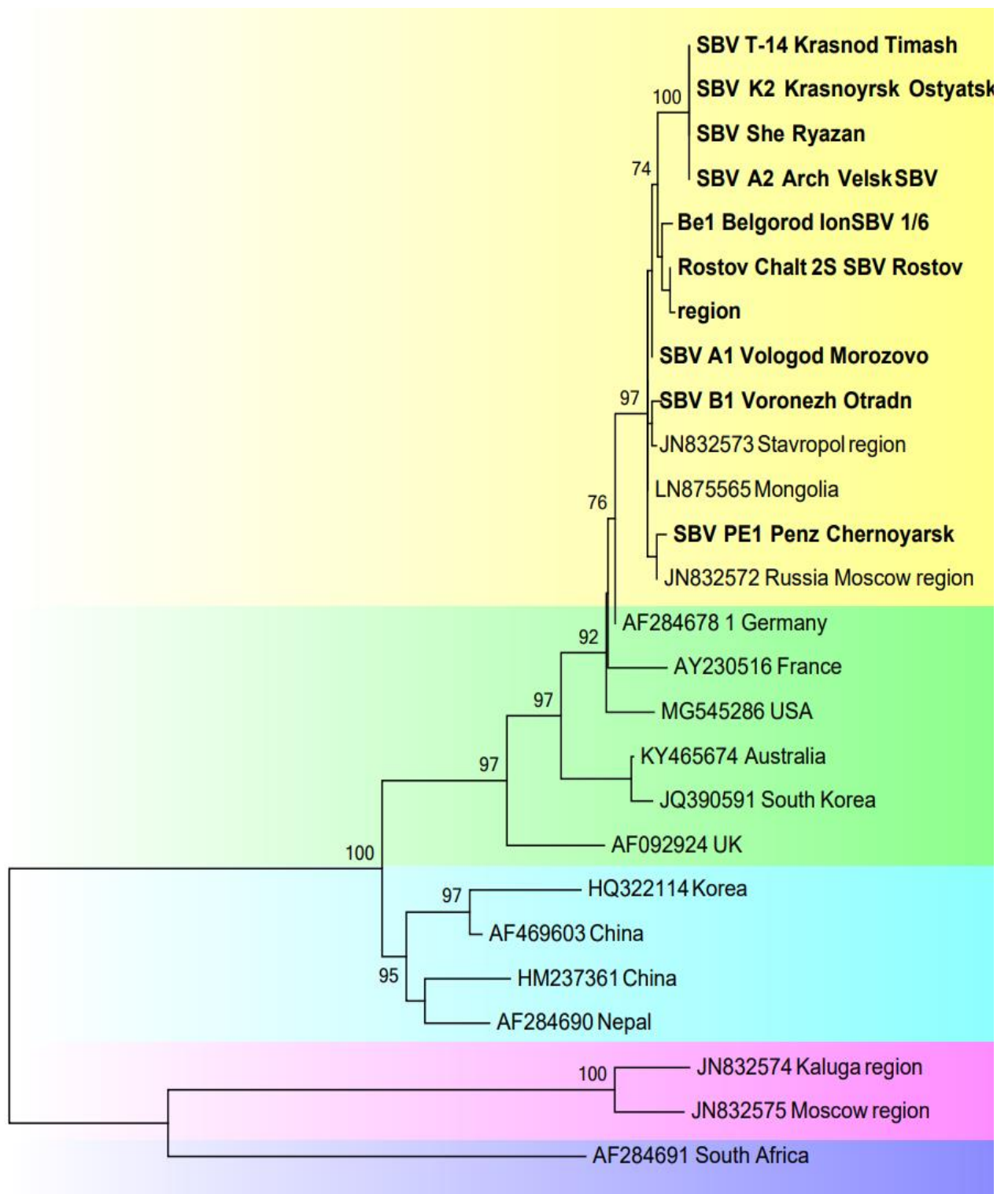


Рисунок 22. Филогенетическое дерево изолятов вируса мешотчатого распада (SBV). Цветом выделены 4 разных генотипа: европейский (желтый-зеленый), азиатский (голубой), впервые выделенный в работе (Ломакина, Батуев, 2012) (отмечен розовым цветом) и южноафриканский (фиолетовый). Желтым цветом обозначена клада российских изолятов в составе европейского генотипа.

Последовательность гена *RdRp* вируса острого паралича (ABPV) по результатам анализа оказалась абсолютно идентична последовательности изолята из Венгрии (AN: AF486072.2) и Китая (AN:NZ821781). Высокое сходство показано и для других образцов из стран Европы (рис.23). Это может свидетельствовать о распространении вируса на территорию России через страны Европы.

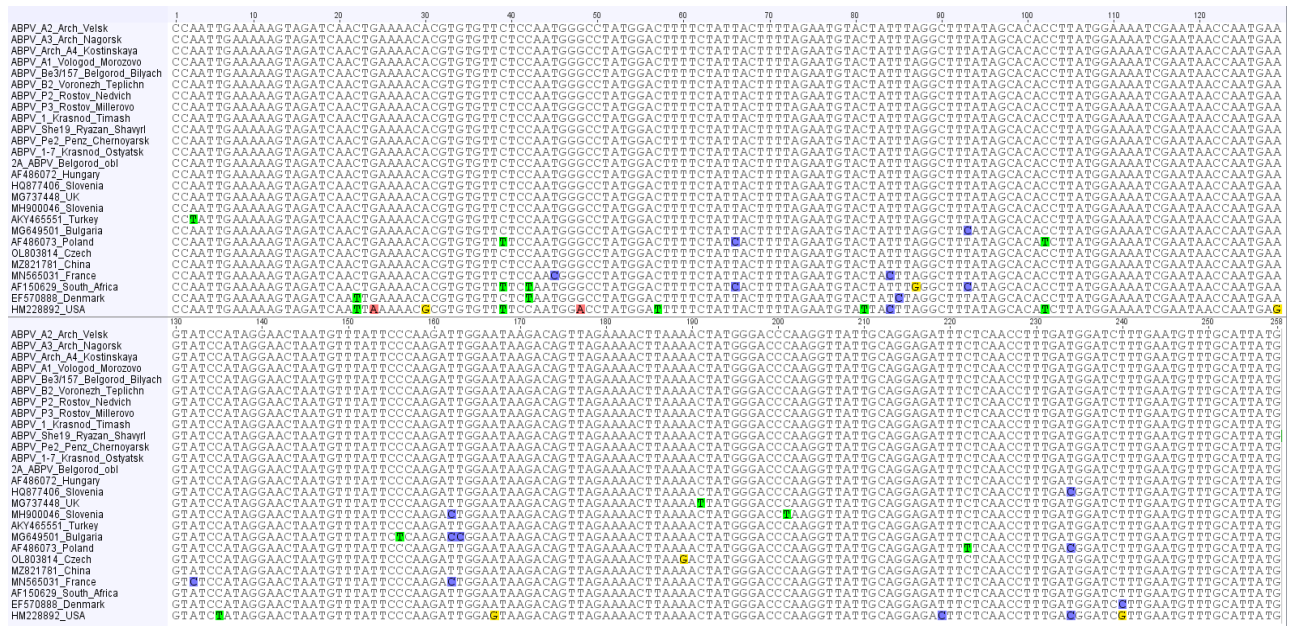


Рисунок 23. Выравненная последовательность генов вируса острого паралича (ABPV) с изолятами из других стран.

Филогенетический анализ последовательностей показал, что вместе с полученными образцами в одну кладу были определены штаммы из различных европейских стран (Чехия, Великобритания, Словения и др.), что может говорить о европейском происхождении штаммов, циркулирующих на территории РФ, и распространении ABPV из России в Китай.

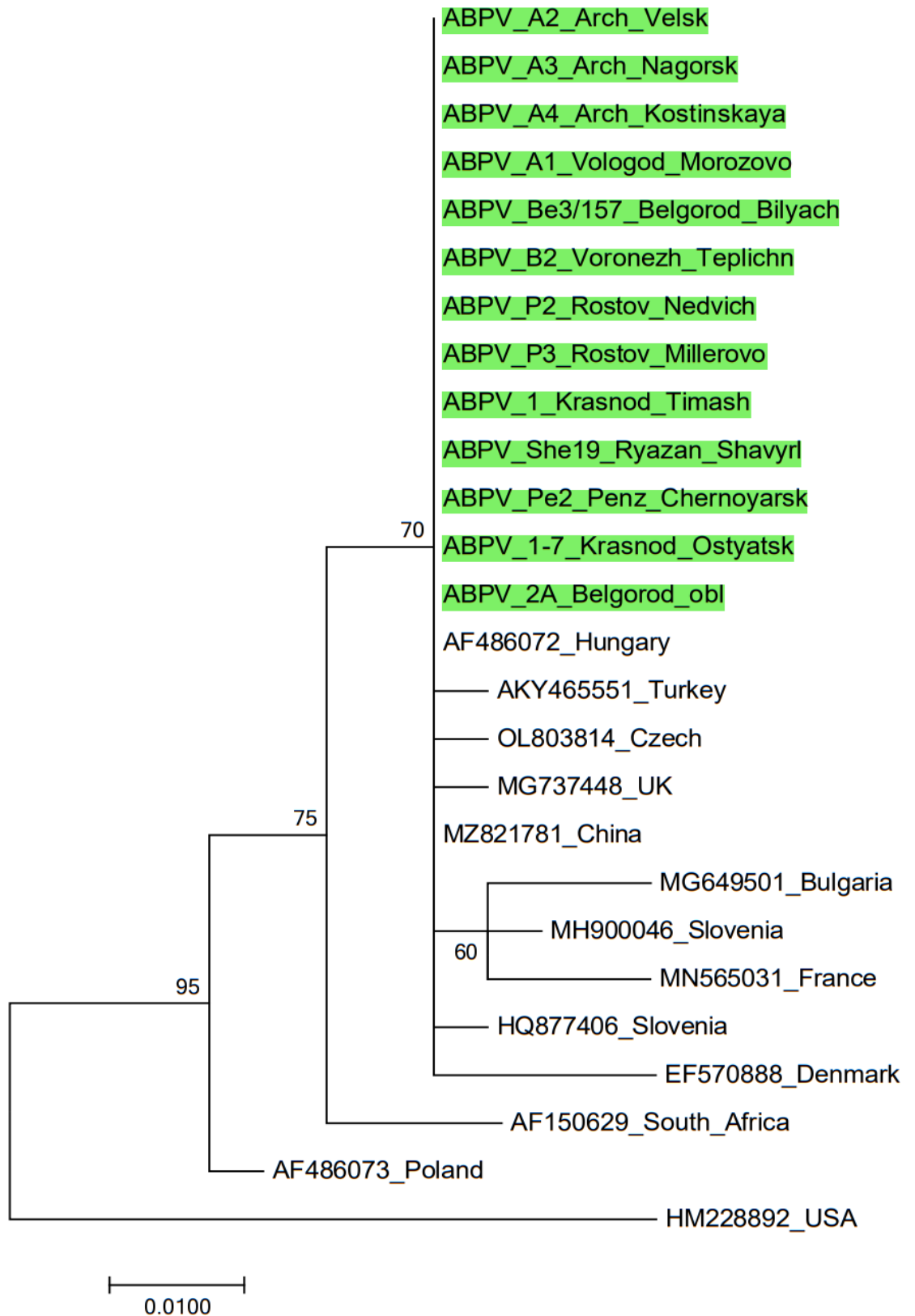


Рисунок 24. Филогенетическое дерево для вируса острого паралича (ABPV)

Для вируса деформации крыла (DWV) показана слабая изменчивость в различных регионах мира. Выделенные изоляты DWV относились либо к типу В, либо к рекомбинантным штаммам, что отражено на филогенетическом дереве. Было выявлено 57 позиций, отличавших тип В от рекомбинантных штаммов. При сравнении с другими последовательностями из базы NCBI, данные замены демонстрировали низкую вариабельность, все изоляты типа В имели одинаковые нуклеотиды в данных позициях (рис.25). Вирусы типа В образуют свою кладу из европейских изолятов, достаточно обособленную от клады рекомбинантных вариантов. Последовательность гена *RdRp* российского изолята вируса оказалась на 99% идентична большинству имеющихся в базе данных фрагментов вирусов. Наибольшая гомология продемонстрирована для последовательности из Польши (AN: KP734595) (рис. 26). Подобная консервативность последовательностей может говорить о низкой скорости мутирования вируса.

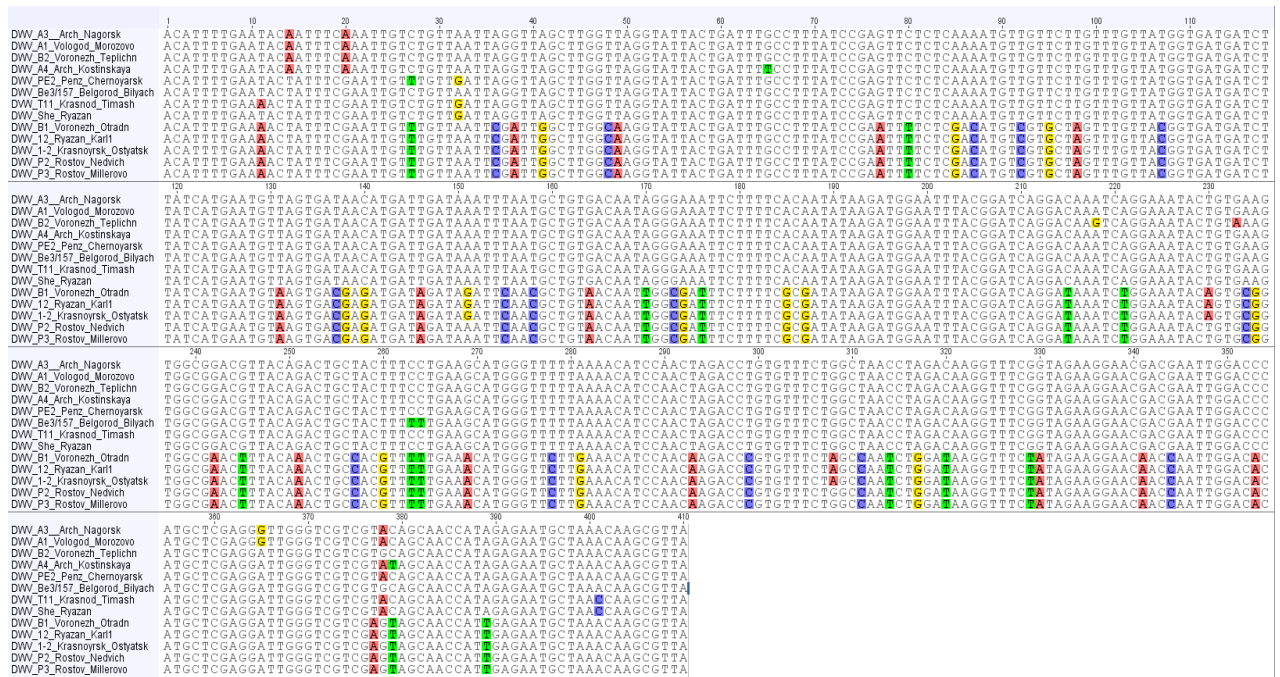


Рис. 25. Выравнивание последовательностей DWV.

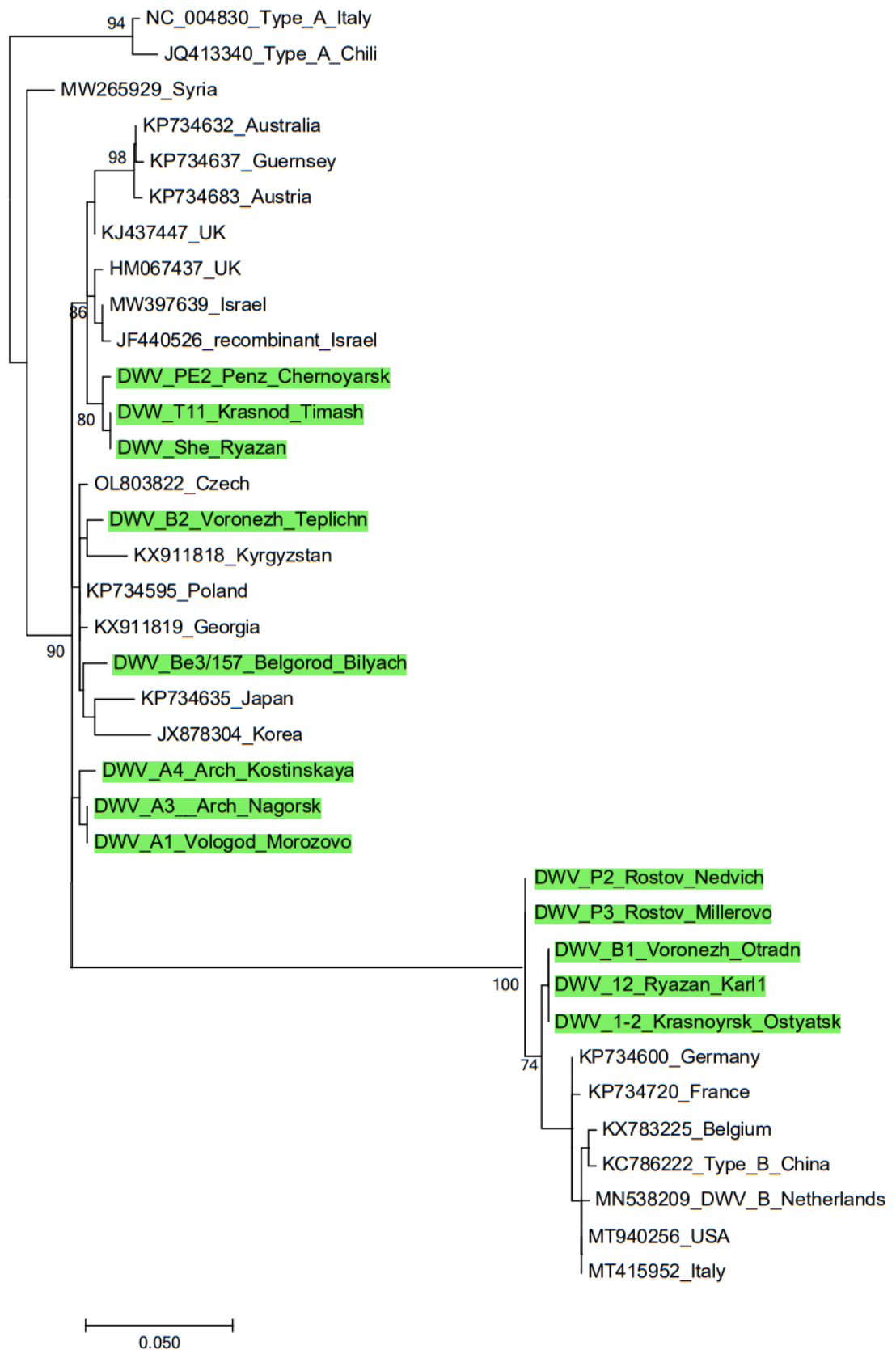


Рисунок 26. Филогенетическое дерево для вируса деформации крыла (DWV)

Изоляты вируса черных маточников (BQCV) по всему миру сильно различаются. Большая вариабельность показана даже между изолятами, обнаруженными на одной пасеке. Наибольшие отличия были обнаружены между образцами Воронежской и Белгородской областей - последовательности имели высокую степень гомологии между собой, но при этом имели 25 специфичных только для них замен (рис.27).

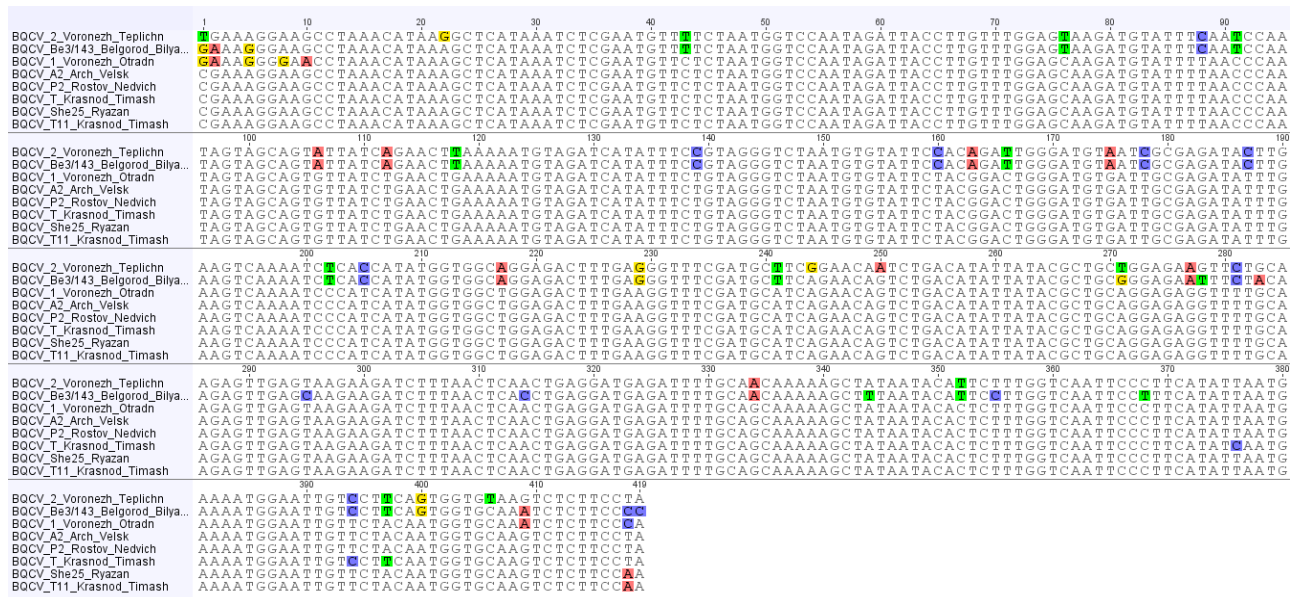


Рисунок 27. Выравнивание последовательностей BQCV

В результате филогенетического анализа большая часть изолятов BQCV, выделенных в Российской Федерации, образовали свою собственную кладу. Однако образцы с пасек Белгородской и Воронежской областей попали в другую кладу и показали высокую степень гомологии с изолятом со изолятом из Китая (AN: KY741959) (96%). Примечательно, что изоляты, выделенные в Воронежской области, но на разных пасеках, оказались в разных кладах. Идентичность с европейскими изолятами составляет не выше 93%. Филогенетическое дерево для вируса черных маточников представлено на рисунке 28.

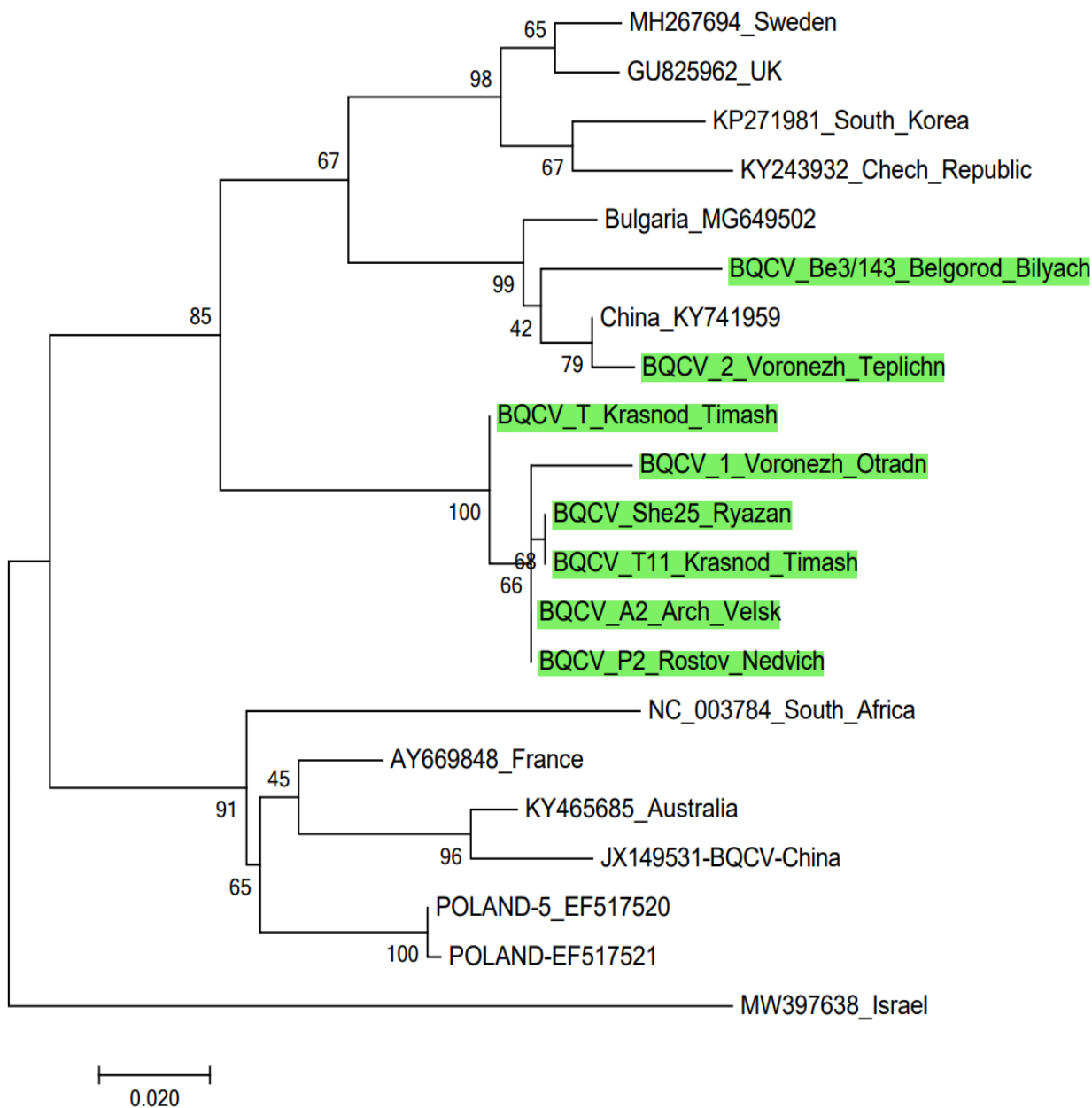


Рисунок 28. Филогенетическое дерево для вируса черных маточников (BQCV)

В целом для вируса черных маточников показано большое внутривидовое разнообразие. Подобное распределение может говорить о распространении вируса черных маточников на российские территории из регионов Китая, а также свидетельствовать о высокой скорости мутирования вируса. Также среди полученных последовательностей три фрагмента из образцов одной пасеки

различались по трем позициям, что может говорить о высокой вариабельности вирусов даже в пределах одной области и требует дальнейших исследований.

Последовательности гена *RdRp* израильского вируса острого паралича обладают слабой изменчивостью – процент идентичности между разными изолятами по всему миру составляет 98-99%. У российских изолятов установлена только одна замена в 327 позиции из Воронежской области Т/С. (рис.29).

IAPV_Belgorod_region	1	10	20	30	40	50	60	70	80	90
IAPV_B1_Voronezh_otradn	100	110	120	130	140	150	160	170	180	190
IAPV_Belgorod_region	TATGATGGACACAATTCTTGAATGCCAAACTGGTGTGAGGAGGACTTGACATTCAGAAGGTACAAAATTGAATTGTGAAAATGCAATTATGGAG									
IAPV_B1_Voronezh_otradn	TATGATGGACACAATTCTTGAATGCCAAACTGGTGTGAGGAGGACTTGACATTCAGAAGGTACAAAATTGAATTGTGAAAATGCAATTATGGAG									
IAPV_Belgorod_region	CTTTCCATGCAFGAAGAGAGCGCTTTTAACTTTGGTCTAAATAAATGACCGAGCATAATGCAAAATGCCACTGGGGATCACCTGGACATAAACACTTA									
IAPV_B1_Voronezh_otradn	CTTTCCATGCAFGAAGAGAGCGCTTTTAACTTTGGTCTAAATAAATGACCGAGCATAATGCAAAATGCCACTGGGGATCACCTGGACATAAACACTTA									
IAPV_Belgorod_region	TCGTGGTTATGCTCAGGAGCGATTTCTGGAACTATATGTAATAATAGTGTCTGAGGACATCATTCATGGTTACCCATCATTAGAGGAAATTTCC									
IAPV_B1_Voronezh_otradn	TCGTGGTTATGCTCAGGAGCGATTTCTGGAACTATATGTAATAATAGTGTCTGAGGACATCATTCATGGTTACCCATCATTAGAGGAAATTTCC									
IAPV_Belgorod_region	AATAAACTCTGGTGTAAAGGCTTAGAGTGATGCGAGGTTGCCCTATTTAGGGTGAAGGAGCCTCGGTGGCAGCCCCAACAACTCTATTGGATAGGA									
IAPV_B1_Voronezh_otradn	AATAAACTCTGGTGTAAAGGCTTAGAGTGATGCGAGGTTGCCCTATTTAGGGTGAAGGAGCCTCGGTGGCAGCCCCAACAACTCTATTGGATAGGA									
IAPV_Belgorod_region	ACAGCTGTACTGGGCAGTTACAGCAGTCTGATGGTAAACACATGCGGCGTTCCGAAATACTATGCCCTGGTGTATTCACAACAAGAAAGCAACTCCCAA									
IAPV_B1_Voronezh_otradn	ACAGCTGTACTGGGCAGTTACAGCAGTCTGATGGTAAACACATGCGGCGTTCCGAAATACTATGCCCTGGTGTATTCACAACAAGAAAGCAACTCCCAA									
IAPV_Belgorod_region	CGTACACAAATACGGAACCTCGCTTCGTCCACTAGTGAAAACTCGATGAGACTCAAGAAATCACAACCTTTTCATGATGTGGAAACTCCAAATAGGATCG									
IAPV_B1_Voronezh_otradn	CGTACACAAATACGGAACCTCGCTTCGTCCACTAGTGAAAACTCGATGAGACTCAAGAAATCACAACCTTTTCATGATGTGGAAACTCCAAATAGGATCG									
IAPV_Belgorod_region	ATACCCCATGGCTCAGGATACCTTCATCGGCTAGGAACATGGATGATACGCACAGTATTATTCAGTTTCTACAGCGCCCCGTTCTCATTTGACAACATT									
IAPV_B1_Voronezh_otradn	ATACCCCATGGCTCAGGATACCTTCATCGGCTAGGAACATGGATGATACGCACAGTATTATTCAGTTTCTACAGCGCCCCGTTCTCATTTGACAACATT									
IAPV_Belgorod_region	GAGATCATTTGCTGGAACTAC									
IAPV_B1_Voronezh_otradn	GAGATCATTTGCTGGAACTAC									

Рисунок 29. Выравнивание двух российских вариантов последовательностей участка гена *RdRp* израильского вируса острого паралича (IAPV).

Близость выделенных нами изолятов к китайским и корейским может означать, что в Россию вирус израильского паралича распространился из Азии. В то время как образцы из европейских стран находятся в одной кладе с изолятами из США и Канады (рис. 30).

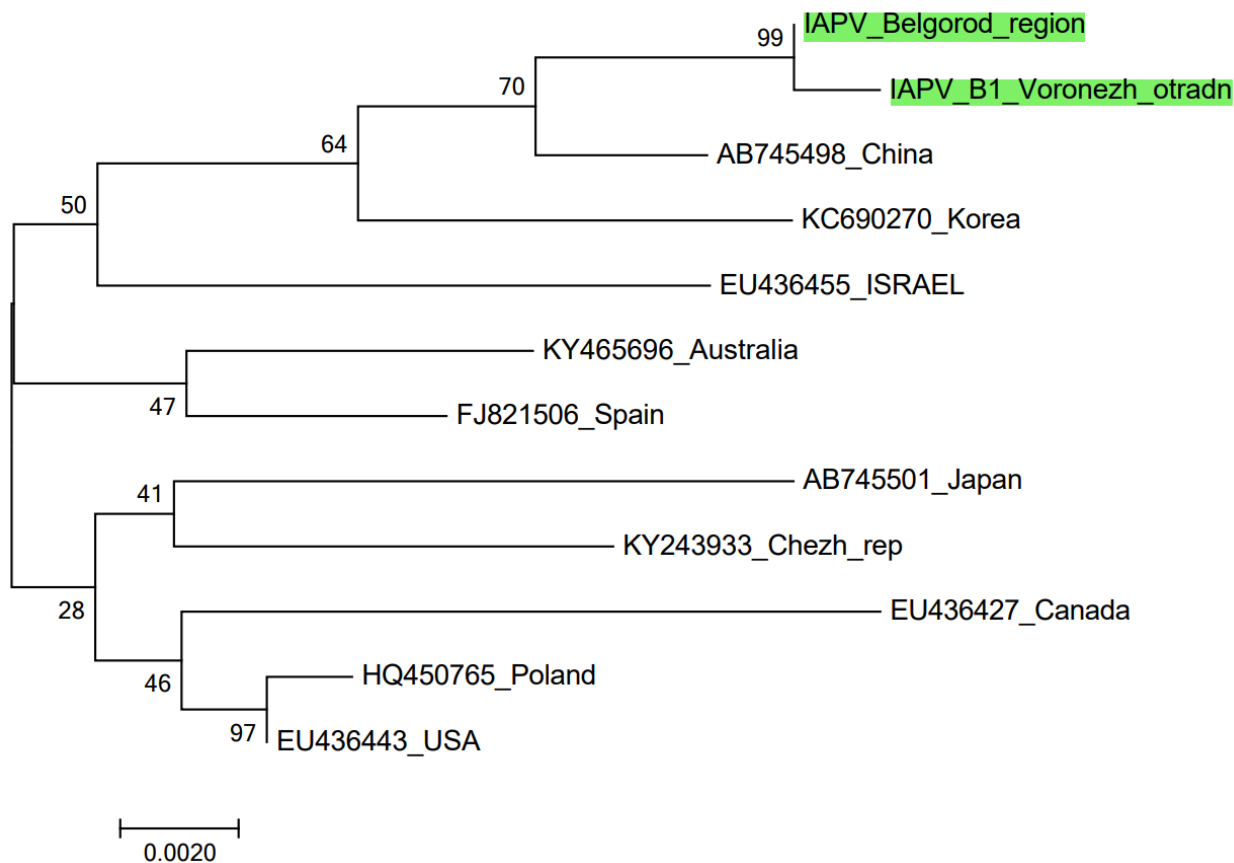


Рисунок 30. Филогенетическое дерево для израильского вируса острого паралича (IAPV)

Анализ сходства полученных нами последовательностей участка гена *RdRp* вирусов с последовательностями вирусов из баз данных говорит о высоком внутри- и межвидовом разнообразии вирусов в мире. Поэтому при создании тест-систем необходимо ориентироваться на ультраконсервативные участки геномов вирусов.

На основе полученных выравниваний последовательностей участка гена *RdRp* выявлены консервативные фрагменты длиной 20-35 оснований. Данные участки видоспецифичны, при межвидовом сравнении последовательности гена *RdRp* выявляется значительный полиморфизм в областях выявленных консервативных участков. Данные последовательности являются потенциальными местами посадки праймеров и зондов, входящих в состав молекулярно-генетических тест-систем для выявления вирусов ABPV, BQCV,

SBV, DWV, IAPV и KBV. Номера последовательностей в базе GenBank указаны в приложении 3.

3.3. Разработка новых высокоспецифичных ПЦР тест-систем в режиме реального времени

На основании полученных нами данных сравнения нуклеотидных последовательностей и филогенетического анализа были разработаны 2 новые высокоспецифичные ПЦР тест-системы для определения вирусов пчёл, циркулирующих на территории Российской Федерации. Анализ вирусов на основе ПЦР в реальном времени дает специфичные, высокочувствительные и надежные результаты, а также экономически более выгоден, так как позволяет экономить время за счет одновременного обнаружения вирусных агентов разного типа. Данная разработка позволяет получать более быстрые и надежные результаты как для диагностических ветеринарных лабораторий, так и для ученых в научно-исследовательских институтах, куда могут обращаться пчеловоды для диагностики вирусов пчел. Обе тест-системы предназначены для одновременной идентификации в одной пробе двух наиболее распространенных патогенных вирусов пчел в режиме реального времени:

- 1) ABPV и SBV;
- 2) DWV и BQCV.

Последовательности подобранных праймеров и зондов представлены в таблице 3.

Таблица 3. Праймеры и зонды, подобранные для тестирования в одной пробе.
Синтезированы компанией «ДНК-синтез».

Вирусы	Праймеры	Зонды
ABPV	F = CCCAAGATTGGAATAAGACAGTTAGA R = GCAAACATTCAAAGATCCATCAA	P = FAM- CCCAAGGTTATTGCAGGAG ATTTCTCA-BHQ1
SBV	F = CCCAAGATTGGAATAAGACAGTTAGA R = GCAAACATTCAAAGATCCATCAA	P = VIC- CCACTAGGGAGAATTGTCTG AGCTGC-BHQ2
DWV	F = GGCGRACKTTACARACTGACYAC R = GCTRYWCGACGACCCAAYCCT	P = VIC- CATCCAACWAGACCYGTG TTTCTRGY-BHQ2
BQCV	F = CCCAATAGTAGCAGTRTTATCWGAACT R = CTCAAAGTCTCCWGCCACCA	P = FAM- CYACRGAYTGGGATGTRAT YGCGAG-BHQ1

1. Набор BQCV(FAM) + DWV(VIC). На рисунках 31 и 32 показаны кривые накопления продукта в разных образцах во время ПЦР в режиме реального времени. Гибридизация специфичных проб произошла с пробами, содержащими вирусы BQCV(FAM) и DWV(VIC). Желтые кривые соответствуют каналу VIC, синие – каналу FAM.

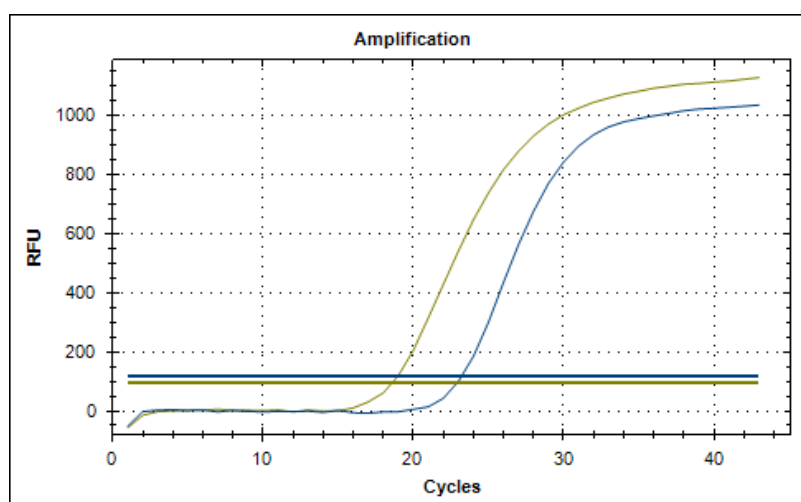


Рисунок 31. Результаты амплификации для образца А (Архангельская область). Кривые свидетельствуют о наличии фрагментов обоих вирусов.

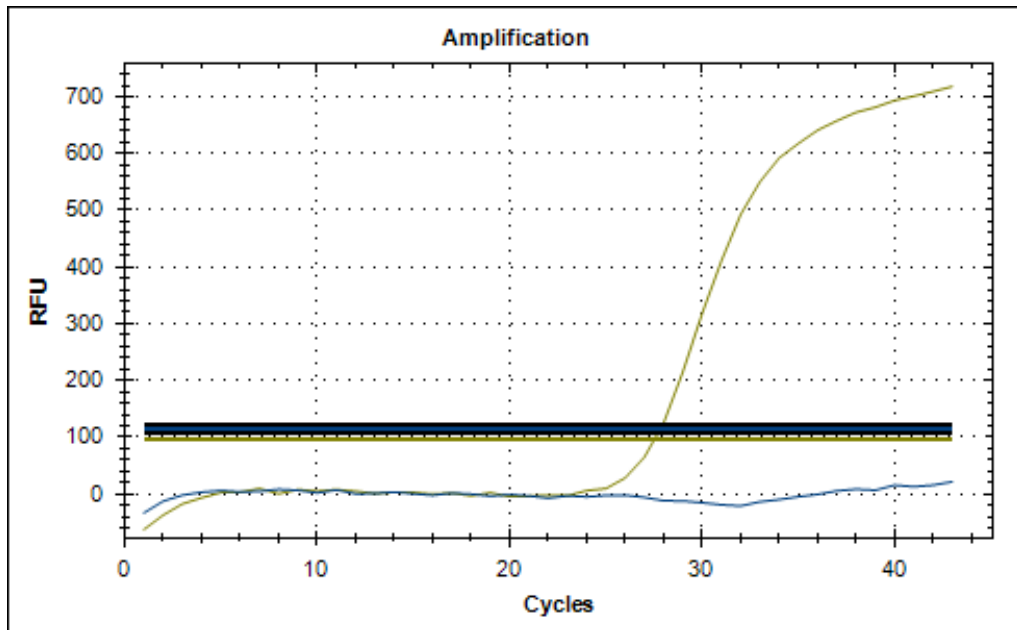


Рисунок 32. Результаты амплификации для образца В (Воронежская область). В пробе определяется только кривая канала VIC, что соответствует наличию в пробе вируса DWV и отсутствию вируса черных маточников.

2. Набор ABPV(FAM) + SBV(VIC). Результаты амплификации на тестовых образцах показаны в виде кривых накоплений по каналам VIC(SBV) и FAM(ABPV) на рисунках 33 и 34.

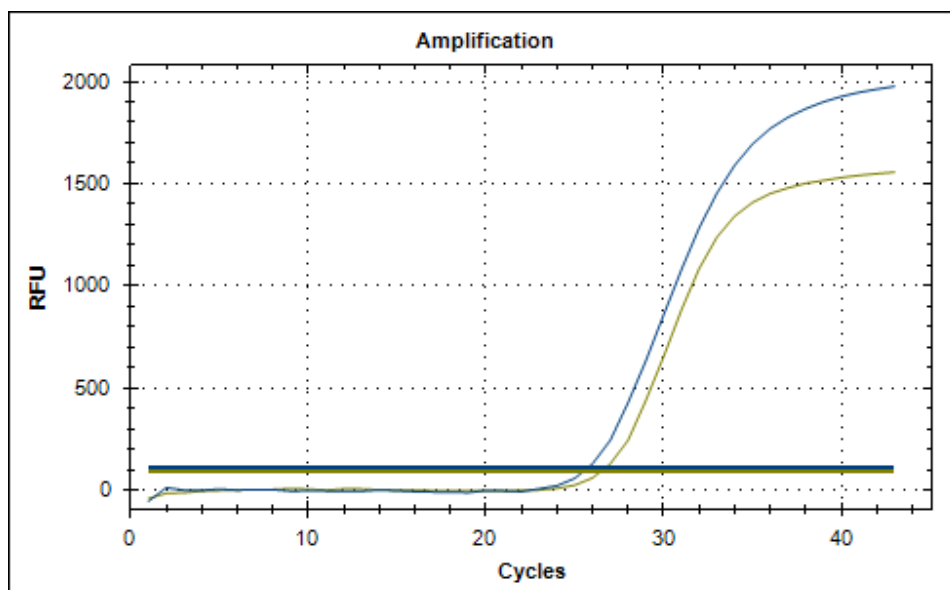


Рисунок 33. Кривые накопления продукта для образца И1 (Московская обл.). В пробе обнаружены фрагменты обоих вирусов – ABPV и SBV.

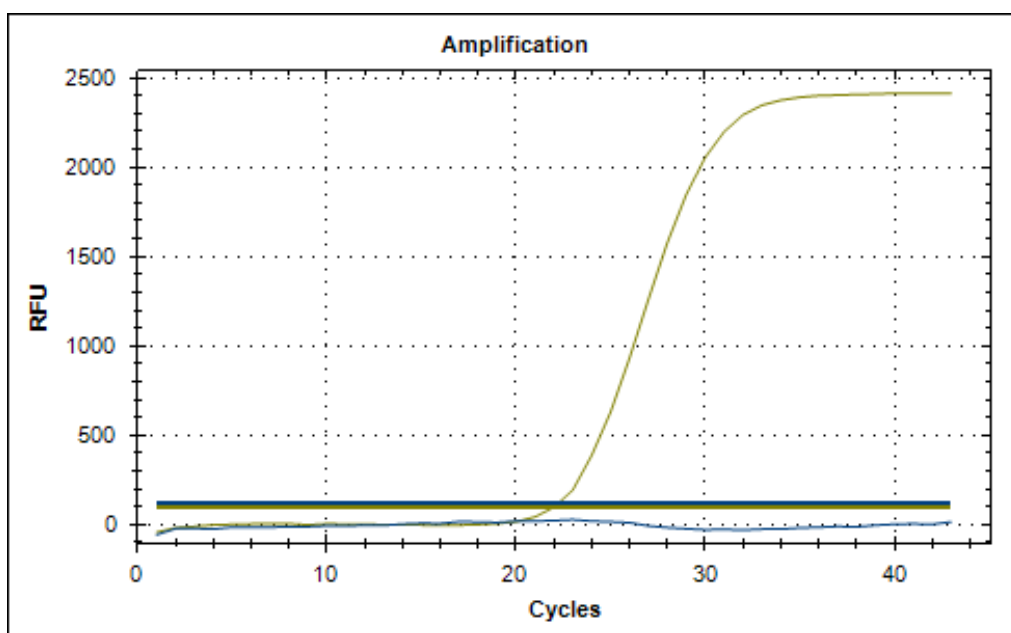


Рисунок 34. Кривая накопления для образца К2 (Красноярский край). Сигнал присутствует только по каналу VIC, соответственно, в пробе определяется лишь вирус мешотчатого расплода.

Таким образом, экспериментально показана эффективность наших тест-систем в качестве инструмента детекции четырех самых распространенных на территории Российской Федерации патогенных вирусов пчел.

Разработанные тест-системы имеют преимущество перед существующими системами, представленными в зарубежных публикациях, т.к. являются высокоспецифичными и подобранными на основании нуклеотидных последовательностей вирусов, распространенных на территории Российской Федерации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1) Исследовано распространение семи патогенных вирусов пчел ABPV, BQCV, SBV, DWV, IAPV, KBV и CBPV на территории областей Европейской части Российской Федерации и в Красноярском крае. На основе этих данных составлены карты распространенности каждого из вирусов на территории Российской Федерации. Определены четыре самых распространенных вида вирусов для каждой области: ABPV, DWV, SBV, BQCV. Самым распространенным вирусом на территории всех областей установлен ABPV, частота его встречаемости Европейской части России достигала 100%. Вирус CBPV не был обнаружен в исследованных областях.

2) 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.

3) Анализ полиморфизма последовательностей участка гена *RdRp* показал идентичность последовательностей вируса ABPV в российском регионе, присутствие двух типов изолятов BQCV даже в пределах одной области, наличие 2 типов изолятов DWV (тип В, рекомбинантные штаммы), отличающихся друг от друга по 57 позициям. Выявлены SNP в изолятах SBV, которые были распространены только среди российских изолятов. Изоляты IAPV и KBV показали незначительную степень полиморфизма.

4) Филогенетический анализ полученных последовательностей вирусов пчел показал для изолятов ABPV, SBV европейское происхождение данных вирусов и вероятное распространение из Азии для штаммов BQCV, KBV, IAPV.

Для штаммов DWV из-за высоких темпов миграции между Европой и Азией установить вектор распространения затруднительно.

5) Разработаны тест-системы для определения пар вирусов в одной пробирке с использованием методики ПЦР в режиме реального времени.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Батуев Ю.М, Горячева И.И. Идентификация вирусов пчел методами молекулярно – генетического анализа // Пчеловодство. 2010. №7. С.10-13.
2. Батуев Ю.М. Мешотчатый расплод // Пчеловодство. 2010. №10. С. 12-15.
3. Волыхина В. Вирусные заболевания пчел // Белорусское сельское хозяйство. 2015. № 6. С.56-59.
4. Гробов О.Ф., Батуев Ю.М., Кузмичева Н.В., Сичанок Е.В. Вирусы пчёл // Пчеловодство. 2006. № 7. С. 13-16.
5. Калашников А.Е., Масленников И.В., Колбина Л.М., Удина И.Г. Генетическая дифференциация популяций медоносных пчел (*Apis mellifera* L.) и распространение РНК-содержащих вирусов на фоне эпизоотии клеща *Varroa destructor* на территории Удмуртии // Сельскохозяйственная биология. 2013. №4. с. 88-92.
6. Калашников А.Е., Удина И.Г. Распространение РНК-содержащих вирусов у медоносной пчелы *Apis mellifera* L. на территории России // Пчеловодство. 2012. №1. с. 72-75.
7. Калашников А.Е. Изучение дифференциации отечественных популяций медоносной пчелы *Apis mellifera* и их инфицированности РНК-содержащими вирусами с помощью молекулярно-генетических методов. Автореферат диссертации на соискание учёной степени кандидата биологических наук. – М.: ГНУ ВИЖ Россельхозакадемии, 2013. 22 с.
8. Калашников А.Е, Удина И.Г., Эпидемиологическое состояние пасек при инфицировании семей пчел РНК-содержащими вирусами // VetPharma. Pharm animals. 2014. №.1 С. 80-84.
9. Калашников А.Е., Удина И.Г. Распространение РНК-содержащих вирусов пчел у медоносной пчелы (*Apis mellifera*) в отдельных регионах России // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2017. №1. С.31-35.

10. Королев А.В., Балакирев Н.А., Масленникова В.И. Анализ причин гибели пчелиных семей в мире // Сборник науч. тр. Международной научно - практич. конф. «Современные проблемы пчеловодства и пути их решения». М. 2016. с. 248-252.
11. Ломакина Н. Ф., Батуев Ю. М. Новый генотип вируса мешотчатого расплода у пчел *Apis mellifera* //Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2012. №. 3. С. 34-40.
12. Масленникова В.И., Климов Е.А., Королев А.В., Кокаева З.Г., Гареев Р.Р., Луныкова А.А. Оценка влияния вирусной и клещевой нагрузки на гибель пчел России // Пчеловодство. 2017. №5. С.28-30.
13. Монахова М.А., Горячева И. И., Кривцов Н.И. Медоносная пчела *Apis mellifera* L. в генетическом поле // Пчеловодство. 2007. №4. С.14-16.
14. Острогляд А.Н. Морфометрические показатели медоносных пчел после двукратной замены маток в условиях неконтролируемого воспроизводства // Ученые записки Таврического Национального Университета им. В.И. Вернадского. 2011. Т.24(63). №1. С.149-152.
15. Сизенцов А. Н., Плотников А.О., Дроздова Е.А., Алешина Е.С., Грязева И.В. Общая вирусология с основами таксономии вирусов позвоночных: учебное пособие // Оренбургский гос. ун-т – Оренбург: ОГУ, 2012. 624 с.
16. Спрыгин А.В., Бабин Ю.Ю., Ханбекова Е.М., Рубцова Л.Е. Угрозы распространения вирусных инфекций у пчел (*Apis mellifera* L.) и роль клеща *Varroa destructor* в развитии патологий // Сельскохозяйственная биология. 2016. Т. 51. № 2. С. 156-171.
17. Aizen M.A., Aguiar S., Biesmeijer J.C., Garibaldi L.A., Inouye D.W., Jung C., Martins D.J., Medel R., Morales C.L., Ngo H., Pauw A., Paxton R.J., Sáez A., Seymour C.L. Global agricultural productivity is threatened by increasing pollinator dependence without a parallel increase in crop diversification //Global Change Biology. 2019. V.25. №.10. p. 3516-3527.

18. Amiri E., Seddon G., Zuluaga Smith W., Strand M.K., Tarpay D.R., Rueppell O. Israeli Acute Paralysis Virus: Honey Bee Queen–Worker Interaction and Potential Virus Transmission Pathways // *Insects*. 2019. V. 10. P. 9-23.
19. Antunez K., D'Alessandro B., Corbella E., Ramallo G., Zunino P. Honeybee viruses in Uruguay // *J Invertebr Pathol*. 2006. V. 93. P. 67-70.
20. Antunez K., Anido M., Garrido-Bailyn E., Botyas C., Zunino P., Martynez-Salvador A., Martyn-Hernandez R., Higes M. Low prevalence of honeybee viruses in Spain during 2006 and 2007 // *Research in Veterinary Science*. 2012. V. 93. P. 1441–1445.
21. Aronstein K.A., Murray K.D. Chalkbrood disease in honeybees // *J Invertebr Pathol*. 2010. V. 103. P. 20-29.
22. Bailey L., Woods R.D. Three previously undescribed viruses from the honeybee // *J Gen Virol*. 1974. V. 25. P. 175-86.
23. Bailey L., Ball B.V. Honeybee pathology // Academic Press, London, UK. 1991.
24. Baker A.C., Schroeder D.C. The use of RNA-dependent RNA polymerase for the axonomic assignment of Picorna-like viruses (order Picornavirales) infecting *Apis mellifera* L. populations // *Virology*. 2008. V. 5. P. 10-20.
25. Bakonyi T., Farkas R., Szendroi A., Dobos-Kovacs M., Rusvai M. Detection of acute bee and *Varroa destructor* field samples: apid screening of representative Hungarian apiaries // *Apidologie*. 2002. V.33. P. 63-74.
26. Beaurepaire A., Piot N., Doublet V., Antunez K., Campbell E., Chantawannakul P., Chejanovsky N., Gajda A., Heerman M., Panziera D., Smagghe G., Yañez O., de Miranda J.R., Dalmon A. Diversity and Global Distribution of Viruses of the Western Honey Bee, *Apis mellifera* // *Insects*. 2020. V.11. N. 239.
27. Benjeddou M., Leat N., Allsopp M., Davison S. Detection of Acute Bee Virus and Black Queen Cell Virus from honeybees by reverse transcriptase PCR // *Appl Environ Microb*. 2001. V. 67. P. 2384-2391.

28. Berényi O., Bakonyi T., Derakhshifar I., Köglberger H., Nowotny N. Occurrence of six honeybee viruses in diseased Austrian apiaries // *Applied Environmental Microbiology*. 2006. V. 72. P. 2414–2420.
29. Blanchard P., Olivier V., Iscache A.L., Celle O., Schurr F., Lallemand P., Ribière M. Improvement of RT-PCR detection of chronic bee paralysis virus (CBPV) required by the description of genomic variability in French CBPV isolates // *J Invertebr Pathol*. 2008. V.97. P. 182-187.
30. Blazyte-Cereskiene L., Vaitkeviciene G., Venskutonyte S., Buda V. Honeybee foraging in spring oil seed rape crops under high ambient temperature conditions // *Zemdirbyste*. 2010. V. 97. P. 61-70.
31. Breeze T.D., Bailey A.P., Baelcombe K.G., Potts G. Pollination services in the UK: how important are honeybees? // *Agr Ecosyst Environ*. 2011. V.142. P.137-143.
32. Brodschneider R., Crailsheim K. Nutrition and health in honeybees // *Apidologie*. 2010. V. 41. P. 278-294.
33. Chantawannakul P., Ward L., Boonham N., Brown M. A scientific note on the detection of honeybee viruses using realtime PCR (TaqMan) in *Varroa* mites collected from a Thai honeybee (*Apis mellifera*) apiary // *J Invertebr Pathol*. 2006. V. 91. P. 69-73.
34. Chantawannakul P., Ramsey S., van Engelsdorp D., Khongphinitbunjong K., Phokasem P. *Tropilaelaps* mite: an emerging threat to European honey bee // *Current opinion in insect science*. 2018. V. 26. P. 69–75.
35. Chen Y.P., Evans J., Feldlaufer M.F. Horizontal and vertical transmission of viruses in the honeybee, *Apis mellifera* // *J Invertebr Pathol*. 2006. V. 92. P.152-159.
36. Chen Y.P., Pettis J.S., Corona M., Chen W.P. Israeli Acute Paralysis Virus: Epidemiology, Pathogenesis and Implications for Honey Bee Health // *PLoS*. 2014. V. 10. N. 7. P. 1-15.
37. Crotti E., Sansonno L., Prosdocimi E.M., Vacchini V., Hamdi C., Cherif A., Gonella E., Marzorati M., Balloi A. Microbial symbionts of honeybees: a promising tool to improve honeybee health // *New Biotechnol*. 2013. V. 30. № 6. P. 716-722.

38. de Miranda J.R., Drebot M., Tyler S., Shen M., Cameron C.E., Stoltz D.B., Camazine S.M. Complete nucleotide sequence of Kashmir bee virus and comparison with acute bee paralysis virus // *J Gen Virol*. 2004. V. 85. P. 2263-2270.
39. de Miranda J.R., Fries I. Venereal and vertical transmission of deformed wing virus in honeybees (*Apis mellifera* L.) // *J Invertebr Pathol*. 2008. V. 98. P. 184-189.
40. de Miranda J.R., Cordon G., Budge G. The Acute bee paralysis virus–Kashmir bee virus–Israeli acute paralysis virus complex // *J Invertebr Pathol*. 2010. V. 103. P. 30-47.
41. de Miranda J.R., Genersch E. Deformed wing virus // *J Invertebr Pathol*. 2010. V. 103. P. 48-61.
42. Ding G., Fondevila N., Palacio M.A., Merke J., Martinez A., Camacho B., Aignasse A., Figini E., Rodriguez G., Lv L., Liu Z., Shi W. Prevalence of honeybee viruses in different regions of China and Argentina // *Revue Scientifique et Technique*. 2016. V. 35. № 3. P. 825-833.
43. Dolezal A.G., Toth A.L. Feedbacks between nutrition and disease in honey bee health // *Current Opinion in Insect Science*. 2018. V. 26. P. 114-119.
44. Ellis J.D., Munn P.A. The worldwide health status of honeybees // *Bee World*. 2005. V. 86. P. 88-101.
45. Fievet J., Tentcheva D., Gauthier L., de Miranda J., Cousserans F., Colin M.E., Bergoin M. Localization of deformed wing virus infection in queen and drone *Apis mellifera* L. // *Virology*. 2008. V. 3. P. 16-21.
46. Forgách P., Bakonyi T., Tapasztó Z., Nowotny N., Rusvai M. Prevalence of pathogenic bee viruses in Hungarian apiaries: Situation before joining the European Union // *J Invertebr Pathol*. 2007. V. 98. P. 235-238.
47. Francis R.M., Nielsen S.L., Kryger P. Varroa-virus interaction in collapsing honey bee colonies // *PLoS ONE*. 2013. V. 8. e57540.
48. Grindrod I., Kevill J.L., Villalobos E.M., Schroeder D.C., Martin S.J. Ten Years of Deformed Wing Virus (DWV) in Hawaiian Honey Bees (*Apis mellifera*), the

Dominant DWV-A Variant Is Potentially Being Replaced by Variants with a DWV-B Coding Sequence // *Viruses*. 2021. V. 13. P. 969.

49. Guo Y., Goodman C.L., Stanley D.W., Bonning B.C. Cell lines for honey bee virus research // *Viruses*. 2020. V. 12. №. 2. P. 236.

50. Gong H.R., Chen X.X., Chen Y.P., Hu F.L., Zhang J.L., Lin Z.G., Yu J.W., Zhenga H.Q. Evidence of *Apis cerana* Sacbrood virus Infection in *Apis mellifera* // *Applied and Environmental Microbiology*. 2016. V. 82. N.8. P. 2256–2262.

51. Johnson R. Honeybee colony collapse disorder // CRS report for congress. 2011. V. 64. № 1. P. 1-6.

52. Kandel M., Paxton R.J., Naggar A.Y. Nationwide Screening for Bee Viruses in *Apis mellifera* Colonies in Egypt // *Insects*. 2023. V. 14. P. 172.

53. Khalifa S.A.M., Elshafiey E.H., Shetaia A.A., El-Wahed A.A.A., Algethami A.F., Musharraf S.G., AlAjmi M.F., Zhao C., Masry S.H.D., Abdel-Daim M.M., Halabi M.F., Kai G., Naggar A.Y., Bishr M., Diab M.A.M., El-Seedi H.R. Overview of Bee Pollination and Its Economic Value for Crop Production // *Insects*. 2021. V. 12. P. 688.

54. Leat N., Ball B., Govan V., Davison S. Analysis of the complete genome sequence of black queen-cell virus, a picorna-like virus of honeybees // *J Gen Virol*. 2008. V. 81. P. 2111-2119.

55. Leonard S.P., Powell J.E., Perutka J., Geng P., Heckmann L.C., Horak R.D., Davies B.W., Ellington A.D., Barrick J.E., Moran N.A. Engineered symbionts activate honey bee immunity and limit pathogens // *Science*. 2020. V.367. №.6477. P.573-576.

56. Levin S., Sela N., Erez T., Nestel D., Pettis J., Neumann P., Chejanovsky N. New Viruses from the Ectoparasite Mite *Varroa destructor* Infesting *Apis mellifera* and *Apis cerana* // *Viruses*. 2019. V. 11. P. 94.

57. Li J., Wang T., Evans J.D., Rose R., Zhao Y., Li Z., Li J., Huang S., Heerman M., Rodríguez-García C., Banmeke O., Brister J.R., Hatcher E.L., Cao L., Hamilton M., Chen Y.. The Phylogeny and Pathogenesis of Sacbrood Virus (SBV) Infection in European Honey Bees, *Apis mellifera* // *Viruses*. 2019. V. 11. P. 61.

58. Locke B., Semberg E., Forsgren E., de Miranda J.R. Persistence of subclinical deformed wing virus infections in honeybees following Varroa mite removal and a bee population turnover // PLoS ONE. 2017. V.12. №7. e0180910.
59. Lomakina N.F., Batuev I.M. New genotype of the sacbrood virus of the honeybee *Apis mellifera* // Mol Gen Mikrobiol Virusol. 2012. V. 3. P. 34-40.
60. Lu C., Warchol K.M., Callahan R.A. Sub-lethal exposure to neonicotinoids impaired honey bees winterization before proceeding to colony collapse disorder // Bulletin of Insectology. 2014. V.67. N.1. P. 125-130.
61. Maori E., Lavi S., Mozes-Koch R., Gantman Y., Peretz Y. Isolation and characterization of Israeli acute paralysis virus, a dicistrovirus affecting honeybees in Israel: evidence for diversity due to intra-and inter-species recombination // J Gen Virol. 2007. V.88. P. 3428–3438.
62. Maori E., Paldi N., Shafir S., Kalev H., Tsur E., Glick E., Sela I. IAPV, a bee affecting virus associated with Colony Collapse Disorder can be silenced by dsRNA ingestion // Insect Mol Biol. 2009. V. 18. P. 55-60.
63. Möckel N., Gisder S., Genersch E. Horizontal transmission of deformed wing virus: pathological consequences in adult bees (*Apis mellifera*) depend on the transmission route // The Journal of general virology. 2011. V. 92. P. 370-377.
64. Molineri A., Giacobino A., Pacini A., Cagnolo B.N., Fondevila N., Ferrufino C., Merke J., Orellano E., Bertozzi E., Masciángelo G., Pietronave H., Signorini M. Risk factors for the presence of Deformed wing virus and Acute bee paralysis virus under temperate and subtropical climate in Argentinian bee colonies // Preventive Veterinary Medicine. 2017. V.140. P. 106-115.
65. Mordecai G.J., Wilfert L., Martin S.J., Jones I.M., Schroeder D.C. Diversity in a honey bee pathogen: first report of a third master variant of the Deformed Wing Virus quasispecies // ISME J. 2016. V.10. N.5. P.1264-1273.
66. Mullapudi E., Pridal A., Pálková L., de Miranda J.R., Plevka P. Virion Structure of Israeli Acute Bee Paralysis Virus // J Virol. 2016. V. 82. P. 6209-6217.

67. Nazzi F., Brown S.P., Annoscia D., Del Piccolo F., Di Prisco G., Varricchio P., Della Vedova G., Cattonaro F., Caprio E., Pennacchio F. Synergistic parasite–pathogen interactions mediated by host immunity can drive the collapse of honeybee colonies // *PLoS Pathog.* 2012. V. 8. P. 1002735.
68. 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 virus and sac brood virus in honeybees (*Apis mellifera*) in Denmark // *Apidologie.* 2008. V.39. P. 310-314.
69. Olgun T., Everhart S.E., Anderson T., Wu-Smart J. Comparative analysis of viruses in four bee species collected from agricultural, urban, and natural landscapes // *PloS one.* 2020. V.15. №.6. P.e0234431.
70. Olivier V., Blanchard P., Chaouch S., Lallemand P., Schurr F., Celle O., Dubois E., Tordo N., Thiéry R., Houlgatte R., Ribière M. Molecular characterisation and phylogenetic analysis of Chronic bee paralysis virus, a honey bee virus // *Virus research.* 2008. V. 132. №.1-2. P. 59-68.
71. Palacios G., Hui J., Quan P.L., Kalkstein A., Honkavuori K.S., Bussetti A.V., Conlan S., Evans J., Chen Y.P., van Engelsdorp D., Efrat H., Pettis J., Cox-Foster D., Holmes E.C., Briese T., Lipkin W.I. Genetic analysis of Israel Acute Paralysis Virus: distinct clusters are circulating in the United States // *J Virol.* 2008. V. 82. № 13. P. 6209-6217.
72. Paxton R.J., Schäfer M.O., Nazzi F., Zanni V., Annoscia D., Marroni F., Bigot D., Laws-Quinn E.R., Panziera D., Jenkins C., Shafiey H. Epidemiology of a major honey bee pathogen, deformed wing virus: potential worldwide replacement of genotype A by genotype B // *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife.* 2022. V.18. P. 157-171.
73. Pettis J.S. Status of colony losses in the US // In: OIE-Apimondia, ed. *Proceedings of the Symposium on Diagnosis and Control of Bee Diseases, 19-20 September, Buenos Aires/Argentina.* 2008. OIE and Apimondia, Freiburg, Germany.

74. Potts S.G., Imperatriz-Fonseca V., Ngo H.T., Aizen M.A., Biesmeijer J.C., Breeze T.D., Dicks L.V., Garibaldi L.A., Hill R., Settele J., Vanbergen A.J. Safeguarding pollinators and their values to human well-being // *Nature*. 2016. V. 540. P. 220-229.
75. Remnant E.J., Shi M., Buchmann G., Blacquièrre T., Holmes E.C., Beekman M., Ashe A. A diverse range of novel RNA viruses in geographically distinct honey bee populations // *Journal of Virology*. 2017. V.91. №.16. P.e00158-17.
76. Reynaldi F.J., Sguazza G.H., Tizzano M.A., Fuentealba N.A., Galosi C.M., Pecoraro M.R. First report of Israeli acute paralysis virus in asymptomatic hives of Argentina // *Rev Argent Microbiol*. 2011. V. 43. P. 84-6.
77. Ribière M., Ball B.V., Aubert M.F.A. Natural history and geographic distribution of honeybee viruses // *Virology and the honeybee*. EC Publications, Brussels, Belgium. 2008. P. 15-84.
78. Ribière M., Olivier V., Blanchard P. Chronic bee paralysis: a disease and a virus like no other? // *Journal of invertebrate pathology*. 2010. V.103. P.120-131.
79. Runckel C., Flenniken M.L., Engel J.C., Ruby J.G., Ganem D., Andino R., De Risi J.L. Temporal analysis of the honeybee microbiome reveals four novel viruses and seasonal prevalence of known viruses, *Nosema*, and *Crithidia* // *Plos One*. 2011. V. 6. P. e20656.
80. Ryabov E.V., Childers A.K., Lopez D., Grubbs K., Posada-Florez F., Weaver D., Girtten W., van Engelsdorp D., Chen Y., Evans J.D. Dynamic evolution in the key honey bee pathogen deformed wing virus: Novel insights into virulence and competition using reverse genetics // *PLoS biology*. 2019. V.17. №.10. P.e3000502.
81. Shah K.S., Evans E.C., Pizzorno M.C. Localization of deformed wing virus (DWV) in the brains of the honeybee, *Apis mellifera* Linnaeus // *Virology*. 2008. V.6. P. 182.
82. Sanpa S., Chantawannakul P. Survey of six bee viruses using RT-PCR in Northern Thailand // *J Invertebr Pathol*. 2009.V. 100. P. 116-119.

83. Seitz K., Buczolic K., Dikunová A., Plevka P., Power K., Rügenapf T., Lamp B. A molecular clone of Chronic Bee Paralysis Virus (CBPV) causes mortality in honey bee pupae (*Apis mellifera*) // Scientific reports. 2019. V.9. №.1. P.1-11.
84. Shen M., Cui L., Ostiguy N., Cox-Foster D. Intricate transmission routes and interactions between picorna-like viruses (Kashmir bee virus and sacbrood virus) with the honeybee host and the parasitic varroa mite // J Gen Virol. 2005. V. 86. P. 2281-2289.
85. Škubníka K., Nováček J., Füzika T., Přidalb A., Paxtonc R.J., Plevka P. Structure of deformed wing virus, a major honey bee pathogen // Current Issue. 2017. V.114. N.12. P. 3210–3215.
86. Steinhauer N., Kulhanek K., Antúnez K., Human H., Chantawannakul P., Chauzat M.P., van Engelsdorp D. Drivers of colony losses // Current Opinion in Insect Science. 2018. V.26. P.142–148.
87. Sushil S.N., Stanley J., Hedau N.K., Bhatt J.C. Enhancing seed production of three Brassica vegetables by honeybee pollination in north-western Himalayas of India // Univ J Agr Res. 2013. V. 1. P. 49-53.
88. Tantillo G., Bottaro M., Pinto A.D., Martella V., Pinto P.D., Terio V. DWV, Virus infections of honeybees *Apis mellifera*, Italia // Italian Journal of Food Safety. 2015. V.4. P.5364.
89. Teixeira E.W., Chen Y., Message D., Pettis J., Evans J.D. Virus infections in Brazilian honeybees // J Invertebr Pathol. 2008. V. 99. P. 117-119.
90. 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 Microb. 2004. V. 70. P. 7185-7191.
91. Tentcheva D., Gauthier L., Bagny L., Fievet J., Dainat B., Cousserans F., Colin M.E., Bergoin M. Comparative analysis of deformed wing virus (DWV) RNA in *Apis mellifera* L. and *Varroa destructor* // Apidologie. 2006. V. 37. P. 41-50.

92. The Honeybee Genome Sequencing Consortium. Insights into social insects from the genome of the honeybee *Apis mellifera* // Nature. 2006.
93. Ullah A., Gajger T. I., Majoros A., Dar S.A., Khan S., Kalimullah H., Shah A., Khabir N.M., Hussain R., Khan H.U., Hameed M., Anjum S.I. Viral impacts on honey bee populations: A review // Saudi Journal of Biological Sciences. 2021. V.28. №.1. P. 523-530.
94. Valles S.M., Chen Y., Firth A.E., Guérin D., Hashimoto Y., Herrero S., de Miranda J.R., Ryabov E., ICTV Report Consortium. ICTV virus taxonomy profile: Iflaviridae // The Journal of general virology. 2017. V.98. №.4. P.527.
95. van Engelsdorp D., Cox-Foster D., Frazier M., Ostiguy N., Hayes J. Colony Collapse Disorder Preliminary Report. 2007. Mid-Atlantic Apiculture Research and Extension Consortium (MAAREC) – CCD Working Group. P. 22.
96. van Engelsdorp D., Meixner M.D. A historical review of managed honeybee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them // J Invertebr Pathol. 2010. V. 103. P. 80-95.
97. van Engelsdorp D., Caron D., Hayes J., Underwood R., Henson M., Rennich K., Spleen A., Andree M., Snyder R., Lee K., Roccasecca K., Wilson M., Wilkes J., Lengerich E., Pettis J. A national survey of managed honeybee 2010–11 winter colony losses in the USA: results from the Bee Informed Partnership // J Apicult Res. 2012. V. 51. P. 115-124.
98. White G.F. Sacbrood, a disease of bees // US Department of Agriculture, Bureau of Entomology, Washington, DC, USA. 1913.
99. Whitfield C.W., Behura S.K., Berlocher S.H., Clark A.G., Johnson J.S., Sheppard W.S., Smith D.R., Snarez A.V., Wenver D., Tsutsui N.D. Thrivent of Africa ancient recent expansions of the honey bee *Apis Mellifera* // Science. 2006. V.31. P. 642.
100. Wilfert L., Long G., Leggett H.C., Schmid-Hempel P., Butlin R., Martin S.J.M., Boots M. Deformed wing virus is a recent global epidemic in honeybees driven by *Varroa mites* // Science. 2016. V.351. P. 594-597.

101. Woodford L., Evans D.J. Deformed wing virus: using reverse genetics to tackle unanswered questions about the most important viral pathogen of honey bees //FEMS Microbiology Reviews. 2021. V.45. №.4. P. fuaa070.
102. Chen Y.P., Pettis J.S., Corona M., Chen W.P., Li C.J., Spivak M., Visscher P.K., DeGrandi-Hoffman G., Boncristiani H., Zhao Y., vanEngelsdorp D., Delaplane K., Solter L., Evans J.D. Israeli Acute Paralysis Virus: Epidemiology, Pathogenesis and Implications for Honey Bee Health // PLOS. 2014.
103. 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. V. 134. P. 405–412.
104. Youssef I., Schurr F., Goulet A., Cougoule N., Ribière-Chabert M., Darbon H., Thiéry R., Dubois E. RNA 1 and RNA 2 genomic segments of chronic bee paralysis virus are infectious and induce chronic bee paralysis disease //Journal of immunology research. 2015.
105. 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. V. 92. P. 105-108.
106. Yue C., Schröder M., Gisder S., Genersch E. Vertical-transmission routes for deformed wing virus of honeybees (*Apis mellifera*) // J Gen Virol. 2007. V. 88. P. 2329-2336.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1. Секвенированные последовательности гена *RdRp* вирусов, распространенных на европейской части территории РФ

>ABPV_A2 (Архангельская обл., г.Вельск)

ССААТТГАААААГТАГАТСААСТГААААСАСГТГТГТТСТССААТГГГСС
ТАТГГАСТТТТСТАТТАСТТТТАГААТГТАСТАТТТАГГСТТТАТАГСА
ССТТАТГГААААТЦГААТААССААТГААГТАТССАТАГГААСТААТГТТТ
АТТССААГАТТГГААТААГАСАГТТАГААААСТТААААСТАТГГГАССС
ААГГТТАТТГСАГГАГАТТТСТСААСТТТГАТГГАТСТТТГААТГТТТГС
АТТАТГ

>ABPV_A3 (Архангельская обл., Устьянский р-н, п.о. Нагорское)

ССААТТГАААААГТАГАТСААСТГААААСАСГТГТГТТСТССААТГГГСС
ТАТГГАСТТТТСТАТТАСТТТТАГААТГТАСТАТТТАГГСТТТАТАГСА
ССТТАТГГААААТЦГААТААССААТГААГТАТССАТАГГААСТААТГТТТ
АТТССААГАТТГГААТААГАСАГТТАГААААСТТААААСТАТГГГАССС
ААГГТТАТТГСАГГАГАТТТСТСААСТТТГАТГГАТСТТТГААТГТТТГС
АТТАТГА

>ABPV_A4 (Архангельская обл., Вельский р-н, д.Костинская)

ССААТТГАААААГТАГАТСААСТГААААСАСГТГТГТТСТССААТГГГСС
ТАТГГАСТТТТСТАТТАСТТТТАГААТГТАСТАТТТАГГСТТТАТАГСА
ССТТАТГГААААТЦГААТААССААТГААГТАТССАТАГГААСТААТГТТТ
АТТССААГАТТГГААТААГАСАГТТАГААААСТТААААСТАТГГГАССС
ААГГТТАТТГСАГГАГАТТТСТСААСТТТГАТГГАТСТТТГААТГТТТГС
АТТАТГА

>ABPV_A1 (Вологодская обл., Верховажский р-он., с. Морозово)

ССААТТГАААААГТАГАТСААСТГАААААСАСГТГТГТТСТССААТГГГСС
ТАТГГАСТТТТСТАТТАСТТТТАГААТГТАСТАТТТАГГСТТТТАТАГСА
ССТТАТГГААААТЦГААТААССААТГААГТАТССАТАГГААСТААТГТТТ
АТТССААГАТТГГААТААГАСАГТТАГААААСТТААААСТАТГГГАССС
ААГГТТАТТГСАГГАГАТТТСТСААСТТТГАТГГАТСТТТГААТГТТТГС
АТТАТГА

> ABPV Бе3/157 (Белгородская обл., к.ф.х. Биляченко) (290 п.о.)

TGTGGGTAGATACATTAAGGATGAGAGAAGACCAATTGAAAAGTAGA
TCAACTGAAAACACGTGTGTTCTCCAATGGGCSTATGGACTTTTСТАТТАС
ТТТТАГААТГТАСТАТТТАГГСТТТТАТАГСАСАСТТАТГГААААТЦГААТ
ААССААТГААГТАТССАТАГГААСТААТГТТТАТТССААГАТТГГААТА
АГАСАГТТАГААААСТТААААСТАТГГГАСССААГГТТАТТГСАГГАГА
ТТТСТСААСТТТГАТГГАТСТТТГААТГТТТГСАТТАТА

>ABPV_B2 (Воронежская обл., ул. Тепличная)

ССААТТГАААААГТАГАТСААСТГАААААСАСГТГТГТТСТССААТГГГСС
ТАТГГАСТТТТСТАТТАСТТТТТАГААТГТАСТАТТТАГГСТТТТАТАГСА
ССТТАТГГААААТЦГААТААССААТГААГТАТССАТАГГААСТААТГТТТ
АТТССААГАТТГГААТААГАСАГТТАГААААСТТААААСТАТГГГАССС
ААГГТТАТТГСАГГАГАТТТСТСААСТТТГАТГГАТСТТТГААТГТТТГС
АТТАТ

>ABPV_P2 (Ростовская обл., Мясниковский р-он, пос.Недвичавка)

TTGTGATGTGGGTAGATACATTAAGGATGAGAGAAGACCAATTGAAA
AGTAGATCAACTGAAAACACGTGTGTTCTCCAATGGGCSTATGGACTTTT
СТАТТАСТТТТТАГААТГТАСТАТТТАГГСТТТТАТАГСАСАСТТАТГГААА
АТЦГААТААССААТГААГТАТССАТАГГААСТААТГТТТАТТССААГАТ

TGGAATAAGACAGTTAGAAAАСТТААААСТАТGGGACCCAAGGTTATTGC
AGGAGATTTCTCAACSTTTGATGGATCTTTGAATGTTTGCATTATG

>ABPV P3 (Ростовская обл., Миллеровский р-он)

TTGTGATGTGGGTAGATACATТААAGGATGAGAGAAGACCAATTGAAAA
AGTAGATCAACTGAAAACACGTGTGTTCTCCAATGGGCSTATGGACTTTT
СТАТТАСТТТТАГААТGТАСТАТТТАGGCTTTATAGCACACSTTATGGAAA
ATCGAATAACCAATGAAGTATCCATAGGAACTAATGTTTATTCCCAAGAT
TGGAATAAGACAGTTAGAAAАСТТААААСТАТGGGACCCAAGGTTATTGC
AGGAGATTTCTCAACSTTTGATGGATCTTTGAATGTTTGCATTATGA

>ABPV_T1 (Краснодарский край, Тимашевск)

CCAATTGAAAAAGTAGATCAACTGAAAACACGTGTGTTCTCCAATGGGCC
TATGGACTTTTCTATТАСТТТТАГААТGТАСТАТТТАGGCTTTATAGCACA
CSTTATGGAAAATCGAATAACCAATGAAGTATCCATAGGAACTAATGTTT
ATTCCCAAGATTGGAATAAGACAGTTAGAAAАСТТААААСТАТGGGACCC
AAGGTTATTGCAGGAGATTTCTCAACSTTTGATGGATCTTTGAATGTTTGC
ATTATGA

>ABPV_ШЕ19 (Рязанская обл., Шацкий р-он, пос.Шавырляй)

CCATTTGAAAAAGTAGATCAACTGAAAACACGTGTGTTCTCCAATGGGCC
TATGGACTTTTCTATТАСТТТТАГААТGТАСТАТТТАGGCTTTATAGCACA
CSTTATGGAAAATCGAATAACCAATGAAGTATCCATAGGAACTAATGTTT
ATTCCCAAGATTGGAATAAGACAGTTAGAAAАСТТААААСТАТGGGACCC
AAGGTTATTGCAGGAGATTTCTCAACSTTTGATGGATCTTTGAATGTTTGC
ATTATGA

>ABPV_ПЕ2 (Пензенская обл., пос. Черноярский)

CCATTTGAAAAAGTAGATCAACTGAAAACACGTGTGTTCTCCAATGGGCC
TATGGACTTTTCTATTA CTTT TAGAATGTACTATTTAGGCTTTATAGCACA
CCTTATGGAAAATCGAATAACCAATGAAGTATCCATAGGAACTAATGTTT
ATTCCAAGATTGGAATAAGACAGTTAGAAAACCTTAAAACSTATGGGACCC
AAGGTTATTGCAGGAGATTTCTCAACSTTTGATGGATCTTTGAATGTTTGC
ATTATGA

>ABPV_1-7 (Красноярский край, д. Остяцкое)

TTGTGATGTGGGGTAGATACATTAAGGATGAGAGAAGACCAATTGAAA
AAGTAGATCAACTGAAAACACGTGTGTTCTCCAATGGGCCTATGGACTTT
TCTATTA CTTT TAGAATGTACTATTTAGGCTTTATAGCACACCTTATGGAA
AATCGAATAACCAATGAAGTATCCATAGGAACTAATGTTTATTCCAAGA
TTGGAATAAGACAGTTAGAAAACCTTAAAACSTATGGGACCCAAGGTTATTG
CAGGAGATTTCTCAACSTTTGATGGATCTTTGAATTTTTGCATTATGA

>DWV_A3_ (Архангельская обл., п.о. Нагорское)

TAGCTTGGTTAGGTATTA CTTGATTTGCSTTTATCCGAGTTCTCTCAAAATG
TTGTTCTTGTTTGTTATGGTGATGATCTTATCATGAATGTTAGTGATAACA
TGATTGATAAATTTAATGCTGTGACAATAGGGAAATTCTTTTCACAATAT
AAGATGGAATTTACGGATCAGGACAAATCAGGAAATACTGTGAAGTGGC
GGACGTTACAGACTGCTACTTTCCTGAAGCATGGGTTTTTAAAACATCCA
ACTAGACCTGTGTTTCTGGCTAACCTAGACAAGGTTTCGGTAGAAGGAAC
GACGAATTGGACCCATGCTCGAGGGTTGGGTCGTTCGTACAGCAACCATAG
AGAATGCTAAACAAGCGTTA

>DWV_A4_ (Архангельская обл., д. Костинская)

TAGCTTGGTTAGGTATTA CTTGATTTTCSTTTATCCGAGTTCTCTCAAAATG
TTGTTCTTGTTTGTTATGGTGATGATCTTATCATGAATGTTAGTGATAACA
TGATTGATAAATTTAATGCTGTGACAATAGGGAAATTCTTTTCACAATAT

AAGATGGAATTTACGGATCAGGACAAATCAGGAAATACTGTGAAGTGGC
GGACGTTACAGACTGCTACTTTCCTGAAGCATGGGTTTTTAAAACATCCA
ACTAGACCTGTGTTTCTGGCTAACCTAGACAAGGTTTCGGTAGAAGGAAC
GACGAATTGGACCCATGCTCGAGGATTGGGTCGTCGTATAGCAACCATAG
AGAATGCTAAACAAGCGTTA

>DWV_A1_ (Вологодская обл., Верховажский р-он, с. Морозово)

TAGCTTGGTTAGGTATTA CTGATTTGCCTTTATCCGAGTTCTCTCAAATG
TTGTTCTTGTTTGTTATGGTGATGATCTTATCATGAATGTTAGTGATAACA
TGATTGATAAATTTAATGCTGTGACAATAGGGAAATTCTTTTCACAATAT
AAGATGGAATTTACGGATCAGGACAAATCAGGAAATACTGTGAAGTGGC
GGACGTTACAGACTGCTACTTTCCTGAAGCATGGGTTTTTAAAACATCCA
ACTAGACCTGTGTTTCTGGCTAACCTAGACAAGGTTTCGGTAGAAGGAAC
GACGAATTGGACCCATGCTCGAGGGTTGGGTCGTCGTACAGCAACCATAG
AGAATGCTAAACAAGCGTTA

> DWV (Белгородская обл., к.ф.х. Биляченко Бе3/157) (409 п.о.)

TTTTGAATACTATTTTCGAATTGTCTGTTAATTAGGTTAGCTTGGTTAGGTA
TACTGATTTGCCTTTATCCGAGTTCTCTCAAATGTTGTTCTTGTTTGTTA
TGGTGATGATCTTATCATGAATGTTAGTGATAACATGATTGATAAATTTA
ATGCTGTGACAATAGGGAAATTCTTTTCACAATATAAGATGGAATTTACG
GATCAGGACAAATCAGGAAATACTGTGAAGTGGCGGACGTTACAGACTG
CTACTTTTTTTGAAGCATGGGTTTTTAAAACATCCA ACTAGACCTGTGTTTC
TGGCTAACTCTAGACAAGGTTTCGGTAGAAGGAACGACGAATTGGACCC
ATGCTCGAGGATTGGGTCGTCGTGCAGCAACCATAGAGAATGCTAAACA
AGCGTTAA

>DWV_B1_ (Воронежская обл., пос. Отрадное)

TGGCTTGGTCAGGTATTA CTGATTTGCCTTTATCCGAATTTTCTCGACATG
TCGTGCTAGTTTGT TACGGTGATGATCTTATCATGAATGTAAGTGACGAG
ATGATAGATAGATTCAACGCTGTAACAATTGGCGATTTCTTTTCGCGATAT
AAGATGGAATTTACGGATCAGGATAAATCTGGAAATACAGTGCGGGTGGC
GAACTTTACAAACTGCCACGTTTTTGA AACATGGGTCTTGAAACATCCA
ACAAGACCCGTGTTTCTAGCCAATCTGGATAAGGTTTCTATAGAAGGAAC
AACCAATTGGACACATGCTCGAGGATTGGGTCGTCGAGTAGCAACCATTG
AGAATGCTAAACAAGCGTTA

>DWV_B2_ (Воронежская обл., ул. Тепличная)

TAGCTTGGTTAGGTATTA CTGATTTGCCTTTATCCGAGTTCTCTCAA AATG
TTGTTCTTGTTTGT TATGGTGATGATCTTATCATGAATGTTAGTGATAACA
TGATTGATAAATTTA ATGCTGTGACAATAGGGAAATTCTTTTCACAATAT
AAGATGGAATTTACGGATCAGGACAAGTCAGGAAATACTGTAAAGTGGC
GGACGTTACAGACTGCTACTTTCCTGAAGCATGGGTTTTTTAAAACATCCA
ACTAGACCTGTGTTTCTGGCTAACCTAGACAAGGTTTTCGGTAGAAGGAAC
GACGAATTGGACCCATGCTCGAGGATTGGGTCGTCGTCGAGCAACCATAG
AGAATGCTAAACAAGCGTTA

>DWV_P2 (Ростовская обл., Мясниковский р-он, с. Недвичавка)

ACATTTTGAAAAC TATTTCGAATTGTTTGT TAAATTCGATTGGCTTGGCAAG
GTATTA CTGATTTGCCTTTATCCGAATTTCTCTCGACATGTCGTTCTAGTTT
GTTACGGTGATGATCTTATCATGAATGTAAGTGACGACATGATAGATAAA
TTCAATGCTGTAACAATTGGCGATTTCTTTTCGCGATATAAGATGGAATTT
ACGGATCAGGATAAATCTGGAAATACTGTGCGGGTGGCGAACTTTACAAAC
TGCCACTTTTTTGA AACATGGGTCTTGAAACATCCAACAAGACCCGTGTT
TCTGGCCAATCTGGATAAGGTTTCTATAGAAGGAACAACCAATTGGACCC
ATGCTCGAGGATTGGGTCGTCGAGTAGCAACCATTGAGAATGCTAAACCA
AGCGTTAA

>DWV_P3 (Ростовская обл., Миллеровский р-он)

ACATTTTCAAATCTATTTTGAATTGTTTGTAAATTCGATTGGCTTGGCAAG
GTATTACTGATTTGCCTTTATCCGAATTTCTCTCGACATGTCGTGCTAGTTT
GTTACGGTGATGATCTTATCATGAATGTAAGTGACGAGATGATAGATAAA
TTCAACGCTGTAACAATTGGCGATTTCTTTTCGCGATATAAGATGGAATTT
ACGGATCAGGATAAATCTGGAAATACTGTGCGGTGGCGAACTTTACAAAC
TGCCACGTTTTTTGAAACATGGGTTCTTGAAACATCCAACAAGACCCGTGT
TTCTGGCCAATCTGGATAAGGTTTCTATAGAAGGAACAACCAATTGGACA
CATGCTCGAGGATTGGGTGTCGTCGAGTAGCAACCATTGAGAATGCTAACCC
AAGCGTTAA

>DVW_T11 (Краснодарский край, Тимашевск)

TACATTTTGA AAACTATTTTGAATTGTCTGTTGATTAGGTTAGCTTGGTTA
GGTATTACTGATTTGCCTTTATCCGAGTTCTCTCAAAATGTTGTTCTTGTTT
GTTATGGTGATGATCTTATCATGAATGTTAGTGATAACATGATTGATAAA
TTAATGCTGTGACAATAGGGAAATTCTTTTCACAATATAAGATGGAATT
TACGGATCAGGACAAATCAGGAAATACTGTGAAGTGGCGGACGTTACAG
ACTGCTACTTTTCTGAAGCATGGGTTTTTAAAACATCCAACCTAGACCTGTG
TTTCTGGCTAACCTAGACAAGGTTTTCGGTAGAAGGAACGACGAATTGGAC
CCATGCTCGAGGATTGGGTGTCGTACAGCAACCATAGAGAATGCTAACCC
AAGCGTTAA

>DWV_Ше17 (Рязанская обл., Шацкий р-он, пос.Шавырляй)

TATTTTGAATTGTCTGTTGATTAGGTTAGCTTGGTTAGGTATTACTGATTT
GCCTTTATCCGAGTTCTCTCAAAATGTTGTTCTTGTTTGTATGGTGATGA
TCTTATCATGAATGTTAGTGATAACATGATTGATAAATTTAATGCTGTGAC
AATAGGGAAATTCTTTTCACAATATAAGATGGAATTTACGGATCAGGACA
AATCAGGAAATACTGTGAAGTGGCGGACGTTACAGACTGCTACTTTCTG
AAGCATGGGTTTTTAAAACATCCAACCTAGACCTGTGTTTCTGGCTAACCT

AGACAAGGTTTCGGTAGAAGGAACGACGAATTGGACCCATGCTCGAGGA
TTGGGTCGTCGTACAGCAACCATAGAGAATGCTAAACCAAGCGTTAA

>DWV_PE2 (Пензенская обл., пос. Черноярский)

TACATTTTGAATACTATTTTCGAATTGTTTGTGATTAGGTTAGCTTGGTTA
GGTATTACTGATTTGCCTTTATCCGAGTTCTCTCAAAATGTTGTTCTTGTTT
GTTATGGTGATGATCTTATCATGAATGTTAGTGATAACATGATTGATAAA
TTAATGCTGTGACAATAGGGAAATTCTTTTCACAATATAAGATGGAATT
TACGGATCAGGACAAATCAGGAAATACTGTGAAGTGGCGGACGTTACAG
ACTGCTACTTTCTGAAGCATGGGTTTTTAAAACATCCAACCTAGACCTGTG
TTTCTGGCTAACCTAGACAAGGTTTCGGTAGAAGGAACGACGAATTGGAC
CCATGCTCGAGGATTGGGTCGTCGTACAGCAACCATAGAGAATGCTAAAC
AAGCGTTAA

>DWV_1-2 (Красноярский край, Енисейский р-он, д. Остяцкое)

TACATTTTGA AAACTATTTTCGAATTGTTTGTTAATTCGATTGGCTTGGCAA
GGTATTACTGATTTGCCTTTATCCGAATTTTCTCGACATGTCGTGCTAGTT
TGTTACGGTGATGATCTTATCATGAATGTAAGTGACGAGATGATAGATAG
ATTCAACGCTGTAACAATTGGCGATTTCTTTTCGCGATATAAGATGGAATT
TACGGATCAGGATAAATCTGGAAATACAGTGCGGTGGCGAACTTTACAA
ACTGCCACGTTTTTGA AACATGGGTTCTTGAAACATCCAACAAGACCCGT
GTTTCTAGCCAATCTGGATAAGGTTTCTATAGAAGGAACAACCAATTGGA
CACATGCTCGAGGATTGGGTCGTCGAGTAGCAACCATTGAGAATGCTAAA
CCAAGCGTTAA

>SBV_A2 (Архангельская обл., г. Вельск)

TGATGGGGGGGGGAACCTTATTGCACGAGTGCTTAAATTCAGTTCACTTA
GTATCTAATACGTTGTACCAACAAAAGTGTGGATCACCTAGTGGAGCGCC
CATCACTGTAGTGATAAATACTTTGGTTAATATATTATATATATTTGTAGC

TTGGGAGACGTTGGTAGGAAGTAAAGAAAGAGGGCAAACCTGGGAATCT
TTTAAACAAAATGTAGAATTGTTTTGCTACGGTGATGATTTGATAATGTCA
GTAACGGATAAGTACAAGGATGTCTTTAATGCATTAACAATAAGTCAATT
TTTGGCACAATATGGAATAGTAGCTACTGACGCAAATAAAGGAGATGAG
GTTGAGGCTTATACGACGTTATTAATAAGTACGTTTTTAAAACATGGGTTT
CGTCCACACGAAGTGTATCCGCATTTGTGGCAATCTGCGCTGGCTTGGAG
TTCTATTAACGATACTACGCAATGGATATGGGAATGTGCTGATTTGAAGT
TGGCCACTAGGGAGAATTGTCGAGCTGCCCTATATCAAGCGCATGGTCAT
GGTAGCACCGTTTACAATAGATTTAAGCAACAAGGGAACAAAAGCATA

>SBV_A1 (Вологодская обл., Верховажский р-он, с. Морозово)

TGATAGAGGGCGTATACCTTATTGCATGAGTGCTTAAATTCAGTTCACTTAG
TATCTAATACGCTGTACCAACAAAAGTGTGGATCACCTAGTGGAGCGCCC
ATCACTGTAGTGATAAATACTTTGGTTAATATATTATATATATTTGTAGCT
TGGGAGACGTTGGTAGGAAGTAAAGAAAGAGGGCAAACCTGGGAATCTT
TCAAACAAAATGTAGAATTATTTTGCTACGGTGATGATTTGATAATGTCA
GTAACAGATAAATATAAGGATGTCTTTAATGCATTAACAATAAGTCAATT
TTTGGCACAATATGGAATAGTAGCTACTGACGCAAATAAAGGAGATGAG
GTTGAGGCTTATACGACGTTATTAATAAGTACGTTTTTAAAACATGGGTTT
CGTCCGCACGAAGTGTATCCGCATTTGTGGCAATCTGCGCTGGCTTGGAG
TTCTATTAACGATACTACGCAATGGATATGGGAATGTGCTGATTTGAAGT
TGGCCACTAGGGAGAATTGTCGAGCTGCCCTATATCAAGCGCATGGTCAT
GGTAGCACCGTTTACAATAGATTTAAGCAACAAGTGA

>SBV_Bel (Белгородская обл., с. Ионовка)

TGTTGAGAGGGGCTTACCTTATTGCATGAGTGCTTAAATTCAGTTCACTTA
GTATCTAATACGCTGTACCAACAAAAGTGTGGATCACCTAGCGGAGCGCC
CATCACTGTAGTGATAAATACTTTGGTTAATATATTATATATATTTGTAGC
TTGGGAGACGTTGGTAGGAAGTAAAGAAAGAGGGCAAACCTGGGAATCT

TTCAAACAAAATGTAGAATTATTTTGCTACGGTGATGATTTGATAATGTC
AGTAACAGATAAGTATAAGGATGTCTTTAATGCATTAACAATAAGTCAAT
TTTTGGCACAATATGGAATAGTAGCTACTGACGCAAATAAAGGAGATGA
GGTTGAGGCTTATACGACGTTATTAATAGTACGTTTTTAAAACATGGGT
TTCGTCCGCACGAAGTGTATCCGCATCTGTGGCAATCTGCGCTGGCTTGG
AGTTCTATTAACGATACTACGCAATGGATATGGGAATGTGCTGATTTGAA
GTTGGCCACTAGGGAGAATTGTCGAGCTGCCCTATATCAAGCGCATGGTC
ATGGTAGCACCGTTTACAATAGATTTAAGCAACAAG

> SBV_B1 (Воронежская обл., пос.Отрадное)

TGATAGAGGCGTATACCTTATTGCATGAGTGCTTAAATTCAGTTCACTTAG
TATCTAATACGCTGTACCAACAAAAGTGTGGATCACCTAGTGGAGCGCCC
ATCACTGTAGTGATAAATACTTTGGTTAATATATTATATATATTTGTAGCT
TGGGAGACGTTGGTAGGAAGTAAAGAAAGAGGGCAAACCTGGGAATCTT
TCAAACAAAATGTAGAATTATTTTGCTACGGTGATGATTTGATAATGTCA
GTAACAGATAAATATAAGGATGTCTTTAATGCATTAACAATAAGTCAATT
TTTGGCACAATATGGAATAGTAGCTACTGACGCAAATAAAGGAGATGAG
GTTGAGGCTTATACGACGTTATTAATAGTACGTTTTTAAAACATGGGTTT
CGTCCGCACGAAGTGTATCCGCATTTGTGGCAATCTGCGCTGGCTTGGAG
TTCTATTAATGATACTACGCAATGGATATGGGAATGTGCTGATTTGAAGT
TGGCCACTAGGGAGAATTGTCGAGCTGCCCTATATCAAGCGCATGGTCAT
GGTAGCACCGTTTACAATAGATTTAAGCAACAAGTGA

> SBV (Ростовская обл., пос.Чалтырь, P1/6)

AGAGGGCGTATACCTTATTGCATGAGTGCTTAAATTCAGTTCACTTAGTAT
CTAATACGCTGTACCAACAAAAGTGTGGATCACCTAGCGGAGCGCCCATC
ACTGTAGTGATAAATACTTTGGTTAATATATTATATATATTTGTAGCTTGG
GAGACGTTGGTAGGAAGTAAAGAAAGAGGGCAAACCTGGGAATCTTTCA
AACAAAATGTAGAATTGTTTTGCTACGGTGATGATTTGATCATGTCAGTA

ACAGATAAGTATAAGGATGTCTTTAATGCATTAACAATAAGTCAATTTTT
GGCACAATATGGAATAGTAGCTACTGACGCAAATAAAGGAGATGAGGTT
GAGGCTTATACGACGTTATTAATAAGTACGTTTTTAAAACATGGGTTTCGT
CCGCACGAAGTGTATCCGCATTTGTGGCAATCTGCGCTGGCTTGGAGTTC
TATTAACGATACTACGCAATGGATATGGGAATGTGCTGATTTGAAGTTGG
CCACTAGGGAGAATTGTCGAGCTGCCCTATATCAAGCGCATGGTCATGGT
AGCACCGTTTACAATAGATTTAAGCAACAAGTGA

>SBV_T-14 (Краснодарский край, Тимашевск)

TGATAGAGGCGTATACCTTATTGCACGAGTGCTTAAATTCAGTTCACTTA
GTATCTAATACGTTGTACCAACAAAAGTGTGGATCACCTAGTGGAGCGCC
CATCACTGTAGTGATAAATACTTTGGTTAATATATTATATATATTTGTAGC
TTGGGAGACGTTGGTAGGAAGTAAAGAAAGAGGGCAAACCTGGGAATCT
TTAAACAAAATGTAGAATTGTTTTGCTACGGTGATGATTTGATAATGTCA
GTAACGGATAAGTACAAGGATGTCTTTAATGCATTAACAATAAGTCAATT
TTTGGCACAATATGGAATAGTAGCTACTGACGCAAATAAAGGAGATGAG
GTTGAGGCTTATACGACGTTATTAATAAGTACGTTTTTAAAACATGGGTTT
CGTCCACACGAAGTGTATCCGCATTTGTGGCAATCTGCGCTGGCTTGGAG
TTCTATTAACGATACTACGCAATGGATATGGGAATGTGCTGATTTGAAGT
TGGCCACTAGGGAGAATTGTCGAGCTGCCCTATATCAAGCGCATGGTCAT
GGTAGCACCGTTTACAATAGATTTAAGCAACAAGTGAACAAAGCATA

>SBV_Ше17 (Рязанская обл., Шацкий р-он, пос.Шавырляй)

ATAGAGGGCGTATACCTTATTGCACGAGTGCTTAAATTCAGTTCACTTAG
TATCTAATACGTTGTACCAACAAAAGTGTGGATCACCTAGTGGAGCGCCC
ATCACTGTAGTGATAAATACTTTGGTTAATATATTATATATATTTGTAGCT
TGGGAGACGTTGGTAGGAAGTAAAGAAAGAGGGCAAACCTGGGAATCTT
TTAAACAAAATGTAGAATTGTTTTGCTACGGTGATGATTTGATAATGTCA

GTAACGGATAAGTACAAGGATGTCTTTAATGCATTAACAATAAGTCAATT
TTTGGCACAATATGGAATAGTAGCTACTGACGCAAATAAAGGAGATGAG
GTTGAGGCTTATACGACGTTATTAATAAGTACGTTTTTAAAACATGGGTTT
CGTCCACACGAAGTGTATCCGCATTTGTGGCAATCTGCGCTGGCTTGGAG
TTCTATTAACGATACTACGCAATGGATATGGGAATGTGCTGATTTGAAGT
TGGCCACTAGGGAGAATTGTCGAGCTGCCCTATATCAAGCGCATGGTCAT
GGTAGCACCGTTTACAATAGATTTAAGCAACAAGTGAACCAAAG

>SBV_PE1 (Пензенская обл., пос. Черноярский)

TGATAGAGGCGTATACCTTATTGCATGAGTGCTTAAATTCAGTTCACCTTAG
TATCTAATACGCTGTACCAACAAAAGTGTGGATCACCTAGTGGAGCGCCC
ATCACTGTAGTGATAAATACTTTGGTTAATATATTATATATATTTGTAGCT
TGGGAGACGTTGGTAGGAAGTAAAGAAAGAGGGCAAACCTGGGAATCTT
TCAAACAAAATGTAGAATTATTTTGCTACGGTGATGATTTGATAATGTCA
GTAACAGATAAATATAAGGATGTCTTTAATGCATTAACAATAAGTCAATT
TTTGGCACAATACGGAATAGTAGCTACTGATGCAAATAAAGGAGATGAG
GTTGAGGCTTATACGACGTTATTAATAAGTACGTTTTTAAAACATGGGTTT
CGTCCGCACGAAGTGTATCCGCATTTGTGGCAATCTGCGCTGGCTTGGAG
TTCTATTAACGATACTACGCAATGGATATGGGAATGTGCTGATTTGAAGT
TGGCCACTAGGGAGAATTGTCGAGCTGCCCTATATCAAGCGCATGGTCAT
GGTAGCACCGTTTATAATAGATTTAAGCAACAAGTGAACAAA

>SBV_K2 (Красноярский край, Енисейская обл., д. Остяцкое)

TGATAGAGGCGTATACCTTATTGCACGAGTGCTTAAATTCAGTTCACCTTA
GTATCTAATACGTTGTACCAACAAAAGTGTGGATCACCTAGTGGAGCGCC
CATCACTGTAGTGATAAATACTTTGGTTAATATATTATATATATTTGTAGC
TTGGGAGACGTTGGTAGGAAGTAAAGAAAGAGGGCAAACCTGGGAATCT
TTTAAACAAAATGTAGAATTGTTTTGCTACGGTGATGATTTGATAATGTCA

GTAACGGATAAGTACAAGGATGTCTTTAATGCATTAACAATAAGTCAATT
TTTGGCACAATATGGAATAGTAGCTACTGACGCAAATAAAGGAGATGAG
GTTGAGGCTTATACGACGTTATTAATAAGTACGTTTTTAAAACATGGGTTT
CGTCCACACGAAGTGTATCCGCATTTGTGGCAATCTGCGCTGGCTTGGAG
TTCTATTAACGATACTACGCAATGGATATGGGAATGTGCTGATTTGAAGT
TGGCCACTAGGGAGAATTGTCGAGCTGCCCTATATCAAGCGCATGGTCAT
GGTAGCACCGTTTACAATAGATTTAAGCAACAAGTGAA

>BQCV_A2 (Архангельская обл., г. Вельск)

CGAAAGGAAGCCTAAACATAAAGCTCATAAATCTCGAATGTTCTCTAATG
GTCCAATAGATTACCTTGTTTGGAGCAAGATGTATTTTAACCCAATAGTA
GCAGTGTTATCTGAACTGAAAAATGTAGATCATATTTCTGTAGGGTCTAA
TGTGTATTCTACGGACTGGGATGTGATTGCGAGATATTTGAAGTCAAAT
CCCATCATATGGTGGCTGGAGACTTTGAAGGTTTCGATGCATCAGAACAG
TCTGACATATTATACGCTGCAGGAGAGGTTTTGCAAGAGTTGAGTAAGAA
GATCTTTAACTCAACTGAGGATGAGATTTTGCAGCAAAAAGCTATAATAC
ACTCTTTGGTCAATTCCCTTCATATTAATGAAAATGGAATTGTTCTACAAT
GGTGCAAGTCTCTTCC

> BQCV Бе3/143 (Белгородская обл., к.ф.х. Биляченко. (419 п.о.)

GAAAGGGAAGCCTAAACATAAAGCTCATAAATCTCGAATGTTTTCTAATG
GTCCAATAGATTACCTTGTTTGGAGTAAGATGTATTTCAATCCAATAGTA
GCAGTATTATCAGAACTTAAAAATGTAGATCATATTTCCGTAGGGTCTAA
TGTGTATTCCACAGATTGGGATGTAATCGCGAGATACTTGAAGTCAAAT
CTCACCATATGGTGGCAGGAGACTTTGAGGGTTTCGATGCTTCAGAACAG
TCTGACATATTATACGCTGCGGGAGAATTTCTACAAGAGTTGAGCAAGAA
GATCTTTAACTCACCTGAGGATGAGATTTTGCACAACAAAAGCTTTAATAC

ATTCCTTGGTCAATTCCTTTCATATTAATGAAAATGGAATTGTCCTTCAGT
GGTGCAAATCTCTTCCCS

>BQCV_B1 (Воронежская обл., пос. Отрадное)

GAAAGGGGAACСТАААСАТАААГСТСАТАААТСТСГААТГТТСТСТААТГ
GTCCAATAGATTACCTTGTTTGGAGCAAGATGTATTTTAACCCAATAGTA
GCAGTGTTATCTGAACTGAAAAATGTAGATCATATTTCTGTAGGGTCTAA
TGTGTATTCTACGGA CTGGGATGTGATTGCGAGATATTTGAAGTCAAAAT
CCCATCATATGGTGGCTGGAGACTTTGAAGGTTTCGATGCATCAGAACAG
TCTGACATATTATACGCTGCAGGAGAGGTTTTGCAAGAGTTGAGTAAGAA
GATCTTTAACTCAACTGAGGATGAGATTTTGCAGCAAAAAGCTATAATAC
ACTCTTTGGTCAATTCCTTTCATATTAATGAAAATGGAATTGTTCTACAAT
GGTGCAAATCTCTTCCCSA

>BQCV_B2 (Воронежская обл., ул. Тепличная)

ATCTTTAACTCAACTGAGGATGAGATTTTGCASAASAAAAGCTATAATACA
TTCTTTGGTCAATTCCTTTCATATTAATGAAAATGGAATTGTCCTTCAGTG
GTGTAAGTCTCTTCTAGTGGTCAATTATCTTACTGCTATTATTAACTCCGT
CTTTGTGAATTTAGTGATGTGTCTCGTATTCATGGAGGCTAACCAAAAAT
ATTCCTTTACGACTGCTTCTTCATTTTTCCGTGAGTGTGGTATAGTAGCAT
ATGGGGACGATCATGTCGTTTCTGTTCCCGAAAAATACTTATCTGTGTTTA
ACCAACAGACACTACCTGTGTTGATGAGTAAATTCGGGATGTTCTATAACC
ATAGAAACCAAGGATGACACAGAAATCGATTTTCTTTCTAGAAAATTGGA
GGATGTGTCGTA CTTGAAACGGAATTTTGTTTATGACGAACCTAGGCAAC
GTTATATTGCTCCTCTTTCTTTGGATGTAATATTGGAAATGCCCATGTGGA
CCAAATCTAGTAGAGACGTTGTAACCAACGTTTTCTG

>BQCV_P2 (Ростовская обл., Мясниковский р-он, пос.Недвичавка)

TGACGAAAGGAAGCCTAAACATAAAGCTCATAAATCTCGAATGTTCTCTA
ATGGTCCAATAGATTACCTTGTTTGGAGCAAGATGTATTTTAACCCAATA
GTAGCAGTGTTATCTGAACTGAAAAATGTAGATCATATTTCTGTAGGGTC
TAATGTGTATTCTACGGACTGGGATGTGATTGCGAGATATTTGAAGTCAA
AATCCCATCATATGGTGGCTGGAGACTTTGAAGGTTTCGATGCATCAGAA
CAGTCTGACATATTATACGCTGCAGGAGAGGTTTTGCAAGAGTTGAGTAA
GAAGATCTTTAACTCAACTGAGGATGAGATTTTGCAGCAAAAAGCTATAA
TACACTCTTTGGTCAATCCCTTCATATTAATGAAAATGGAATTGTTCTAC
AATGGTGCAAGTCTCTTCCA

>BQCV_T (Краснодарский край, Тимашевск)

TGACGAAAGGAAGCCTAAACATAAAGCTCATAAATCTCGAATGTTCTCTA
ATGGTCCAATAGATTACCTTGTTTGGAGCAAGATGTATTTTAACCCAATA
GTAGCAGTGTTATCTGAACTGAAAAATGTAGATCATATTTCTGTAGGGTC
TAATGTGTATTCTACGGACTGGGATGTGATTGCGAGATATTTGAAGTCAA
AATCCCATCATATGGTGGCTGGAGACTTTGAAGGTTTCGATGCATCAGAA
CAGTCTGACATATTATACGCTGCAGGAGAGGTTTTGCAAGAGTTGAGTAA
GAAGATCTTTAACTCAACTGAGGATGAGATTTTGCAGCAAAAAGCTATAA
TACACTCTTTGGTCAATCCCTTCATATCAATGAAAATGGAATTGTCCTTC
AATGGTGCAAGTCTCTTCCA

>BQCV_Ше25 (Рязанская обл., Шацкий р-он, пос.Шавырляй)

TGACGAAAGGAAGCCTAAACATAAAGCTCATAAATCTCGAATGTTCTCTA
ATGGTCCAATAGATTACCTTGTTTGGAGCAAGATGTATTTTAACCCAATA
GTAGCAGTGTTATCTGAACTGAAAAATGTAGATCATATTTCTGTAGGGTC
TAATGTGTATTCTACGGACTGGGATGTGATTGCGAGATATTTGAAGTCAA

AATCCCATCATATGGYGGCTGGAGACTTTGAAGGTTTCGATGCATCAGAA
CAGTCTGMCATATTATACSCTGCAGGAGAGGYTTTGCAAGAGTTGAGTAA
GAASATCTTTAACTCAACTGAGGATGAGATTTTGCAGCAAAAAGCTATAA
TACACTCTTTGGTCAATTCCCTTCATATTAATGAAAATGGAATTGTTCTAC
AATGGTGCAAGTCTCTTCCA

> KBV, Be3/155 (Белгородская обл.к.ф.х. Биляченко,) (411 п.о.)

AACGTCGACСТАТТGAAAAAGTTAATCAATTGAAAACACGAGTATTTTCA
AATGGACCAATGGATTTCTCTATAGCTTTTTCGAATGTATTATTTGGGCTTT
ATAGCTCATTGATGGAAAATCGAATТАСТАATGAGGTGTCCATTGGAAC
GAATGTGTATTCTCAAGACTGGAGTAGAACTGTTTCGCAAGTTGACCAAT
TTGGAATAAAGTTATTGCAGGTGATTTTTCAACTTTTGATGGATCACTGA
ATGTATGTATTATGGAAAAATTTGCAGATTTAGCGAATGAGTTTTATGAT
GATGGAGAAGAAAATAATCTGATCAGACACGTGTTGTTGATGGATGTGTA
CAATTCTGTACACATCTGCAATGACTCCGTGTATATGATGACTCATAGCC
AACCCACAA

>IAPV_B1 (Воронежская обл., пос. Отрадное)

ATTCTTGAAATGCCAAACTGGTGTCGAGGAGGACTTGACATTCAAGAAGG
TACAAAATTGAATTGTGAAAATGCAATTATGGAGCTTTCCATGCATGAAG
AGAGCGTTTTTAATACTTGGTCTAAAATAATTGACCGAGCATATGCAAAT
GCGACTGGGGATCACCTGGACATAAACACTTATCGTGGTTATGCTCAGGA
GCGATTTCTGGAATACTATATGTAAATATAGTGTTCTGGAGGCATCATTCT
ATGGTTACCCATCATTAGAGGAAATTTCCAATAAACTCTGGTGTAAGGCT
TAGAGTGATGGCCGAGGTGCCCTATTTAGGGTGAGGAGCCTCGGTGGCAG
CCCCACCAAATCCTCTATTGGATAGGAACAGCTGTACTGGGCAGTTACAG
CAGTCGTATGGTAACACATGCGGCGTTCCGAAATACTATGCCTGGTGATT
CACAACAAGAAAGCAATACTCCCAACGTACACAATACGGAACCTCGCTTC
GTCCACTAGTGAAAACCTCGATTGAGACTCAAGAAATCACAACCTTTCATG

ATGTGGAAACTCCAAATAGGATCGATACCCCATGGCTCAGGATACTTCA
TCGGCTAGGAACATGGATGATACGCACAGTATTATTCAGTTTCTACAGCG
CCCCGTTCTCATTGACAACATTGAGATCATTGT

> IAPV Be2-10 (Белгородская обл., хут. Крондштат,)

TTATGTATGGACACAATTCTTGAAATGCCAAACTGGTGTCTGAGGAGGACT
TGACATTCAAGAAGGTACAAAATTGAATTGTGAAAATGCAATTATGGAGC
TTTCCATGCATGAAGAGAGCGTTTTTAATACTTGGTCTAAAATAATTGACC
GAGCATATGCAAATGCGACTGGGGATCACCTGGACATAAACACTTATCGT
GGTTATGCTCAGGAGCGATTTCTGGAATACTATATGTAAATATAGTGTTCT
GGAGGCATCATTCTATGGTTACCCATCATTAGAGGAAATTTCCAATAAAC
TCTGGTGTAAGGCTTAGAGTGATGGTCGAGGTGCCCTATTTAGGGTGAGG
AGCCTCGGTGGCAGCCCCACCAAATCCTCTATTGGATAGGAACAGCTGTA
CTGGGCAGTTACAGCAGTCGTATGGTAACACATGCGGCGTTCCGAAATAC
TATGCCTGGTGATTCACAACAAGAAAGCAATACTCCCAACGTACACAATA
CGGAACTCGCTTCGTCCACTAGTGAAAACCTCGATTGAGACTCAAGAAATC
ACAACCTTTCATGATGTGGAAACTCCAAATAGGATCGATACCCCATGGC
TCAGGATACTTCATCGGCTAGGAACATGGATGATACGCACAGTATTATTC
AGTTTCTACAGCGCCCCGTTCTCATTGACAACATTGAGATCATTGCTGGA
ACTACAA

Приложение 2. Выравнивания полученных последовательностей.

ABPV

Accession	Country	Sequence
ABPV_A2 Arch, Yukisk	Yukisk	1 CCAATTTGAA... 100 110 120
ABPV_A3 Arch, Narodsk	Narodsk	1 CCAATTTGAA... 100 110 120
ABPV_A4 Arch, Koshovskaja	Koshovskaja	1 CCAATTTGAA... 100 110 120
ABPV_A1 Vokhod, Muzozovo	Muzozovo	1 CCAATTTGAA... 100 110 120
ABPV_B3157 Vajvod, Vlyach	Vajvod, Vlyach	1 CCAATTTGAA... 100 110 120
ABPV_B2 Vokhod, Terlim	Vokhod, Terlim	1 CCAATTTGAA... 100 110 120
ABPV_P2 Restov, Milyovo	Restov, Milyovo	1 CCAATTTGAA... 100 110 120
ABPV_P3 Restov, Milyovo	Restov, Milyovo	1 CCAATTTGAA... 100 110 120
ABPV_1 Krasnod, Tmash	Krasnod, Tmash	1 CCAATTTGAA... 100 110 120
ABPV_P19 Ruzan, Shmari	Ruzan, Shmari	1 CCAATTTGAA... 100 110 120
ABPV_P22 Part, Shmari	Part, Shmari	1 CCAATTTGAA... 100 110 120
ABPV_1-7 Krasnod, Ostvask	Krasnod, Ostvask	1 CCAATTTGAA... 100 110 120
AF146017 Hindoy	Hindoy	1 CCAATTTGAA... 100 110 120
M6737406 Slovenia	Slovenia	1 CCAATTTGAA... 100 110 120
M6737448 UK	UK	1 CCAATTTGAA... 100 110 120
IN900046 Slovenia	Slovenia	1 CCAATTTGAA... 100 110 120
AK1406551 Turkey	Turkey	1 CCAATTTGAA... 100 110 120
M0449501 Bulgaria	Bulgaria	1 CCAATTTGAA... 100 110 120
AF146013 Poland	Poland	1 CCAATTTGAA... 100 110 120
OL803814 Czech	Czech	1 CCAATTTGAA... 100 110 120
M2821781 China	China	1 CCAATTTGAA... 100 110 120
M56565031 France	France	1 CCAATTTGAA... 100 110 120
AF150619 South Africa	South Africa	1 CCAATTTGAA... 100 110 120
EF570888 Denmark	Denmark	1 CCAATTTGAA... 100 110 120
NM22892_USA	USA	1 CCAATTTGAA... 100 110 120
ABPV_A2 Arch, Yukisk	Yukisk	10 CCAATTTGAA... 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120
ABPV_A3 Arch, Narodsk	Narodsk	10 CCAATTTGAA... 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120
ABPV_A4 Arch, Koshovskaja	Koshovskaja	10 CCAATTTGAA... 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120
ABPV_A1 Vokhod, Muzozovo	Muzozovo	10 CCAATTTGAA... 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120
ABPV_B3157 Vajvod, Vlyach	Vajvod, Vlyach	10 CCAATTTGAA... 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120
ABPV_B2 Vokhod, Terlim	Vokhod, Terlim	10 CCAATTTGAA... 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120
ABPV_P2 Restov, Milyovo	Restov, Milyovo	10 CCAATTTGAA... 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120
ABPV_P3 Restov, Milyovo	Restov, Milyovo	10 CCAATTTGAA... 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120
ABPV_1 Krasnod, Tmash	Krasnod, Tmash	10 CCAATTTGAA... 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120
ABPV_P19 Ruzan, Shmari	Ruzan, Shmari	10 CCAATTTGAA... 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120
ABPV_P22 Part, Shmari	Part, Shmari	10 CCAATTTGAA... 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120
ABPV_1-7 Krasnod, Ostvask	Krasnod, Ostvask	10 CCAATTTGAA... 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120
AF146017 Hindoy	Hindoy	10 CCAATTTGAA... 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120
M6737406 Slovenia	Slovenia	10 CCAATTTGAA... 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120
M6737448 UK	UK	10 CCAATTTGAA... 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120
IN900046 Slovenia	Slovenia	10 CCAATTTGAA... 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120
AK1406551 Turkey	Turkey	10 CCAATTTGAA... 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120
M0449501 Bulgaria	Bulgaria	10 CCAATTTGAA... 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120
AF146013 Poland	Poland	10 CCAATTTGAA... 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120
OL803814 Czech	Czech	10 CCAATTTGAA... 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120
M2821781 China	China	10 CCAATTTGAA... 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120
M56565031 France	France	10 CCAATTTGAA... 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120
AF150619 South Africa	South Africa	10 CCAATTTGAA... 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120
EF570888 Denmark	Denmark	10 CCAATTTGAA... 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120
NM22892_USA	USA	10 CCAATTTGAA... 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120

1. NC_004830_Type_A_Italy	GAAAUACUUCU	AAAAGUGGCGGACCGU	UACACAGUCU	GUACUUCU	UUUAAA	CAU	GGGUGU	UUUAAAA	CAU	CCACUA	GACCU	UGU	UUUU	AGCU	AAACUU	GGACA	AGGU	UUUCGGU	AG
2. J041340_Type_A_Chili	GAAAUACUUCU	AAAAGUGGCGGACCGU	UACACAGUCU	GUACUUCU	UUUAAA	CAU	GGGUGU	UUUAAAA	CAU	CCACUA	GACCU	UGU	UUUU	AGCU	AAACUU	GGACA	AGGU	UUUCGGU	AG
3. DWV_A3_Arch_Nepouok	GAAAATACCTGT	GAAAGTGGCGGACCGT	TACACAGCTG	CTACTTTC	CTG	AAAGCA	TGGGTT	TTTAA	AAACAT	CCAACT	AGAACCT	GTGTT	CTG	GGCT	AACT	AGAACG	TTTCGGT	AG	
4. DWV_A1_Vologod_Morozov	GAAAATACCTGT	GAAAGTGGCGGACCGT	TACACAGCTG	CTACTTTC	CTG	AAAGCA	TGGGTT	TTTAA	AAACAT	CCAACT	AGAACCT	GTGTT	CTG	GGCT	AACT	AGAACG	TTTCGGT	AG	
5. DWV_B2_Voronzh_Teplich	GAAAATACCTGT	GAAAGTGGCGGACCGT	TACACAGCTG	CTACTTTC	CTG	AAAGCA	TGGGTT	TTTAA	AAACAT	CCAACT	AGAACCT	GTGTT	CTG	GGCT	AACT	AGAACG	TTTCGGT	AG	
6. DWV_A4_Arch_Koshinskaya	GAAAATACCTGT	GAAAGTGGCGGACCGT	TACACAGCTG	CTACTTTC	CTG	AAAGCA	TGGGTT	TTTAA	AAACAT	CCAACT	AGAACCT	GTGTT	CTG	GGCT	AACT	AGAACG	TTTCGGT	AG	
7. KP734635_Poland	GAAAATACCTGT	GAAAGTGGCGGACCGT	TACACAGCTG	CTACTTTC	CTG	AAAGCA	TGGGTT	TTTAA	AAACAT	CCAACT	AGAACCT	GTGTT	CTG	GGCT	AACT	AGAACG	TTTCGGT	AG	
8. KP734635_Japan	GAAAATACCTGT	GAAAGTGGCGGACCGT	TACACAGCTG	CTACTTTC	CTG	AAAGCA	TGGGTT	TTTAA	AAACAT	CCAACT	AGAACCT	GTGTT	CTG	GGCT	AACT	AGAACG	TTTCGGT	AG	
9. KP734632_Australia	GAAAATACCTGT	GAAAGTGGCGGACCGT	TACACAGCTG	CTACTTTC	CTG	AAAGCA	TGGGTT	TTTAA	AAACAT	CCAACT	AGAACCT	GTGTT	CTG	GGCT	AACT	AGAACG	TTTCGGT	AG	
10. KP734683_Austria	GAAAATACCTGT	GAAAGTGGCGGACCGT	TACACAGCTG	CTACTTTC	CTG	AAAGCA	TGGGTT	TTTAA	AAACAT	CCAACT	AGAACCT	GTGTT	CTG	GGCT	AACT	AGAACG	TTTCGGT	AG	
11. KP734637_Germany	GAAAATACCTGT	GAAAGTGGCGGACCGT	TACACAGCTG	CTACTTTC	CTG	AAAGCA	TGGGTT	TTTAA	AAACAT	CCAACT	AGAACCT	GTGTT	CTG	GGCT	AACT	AGAACG	TTTCGGT	AG	
12. OL803822_Czech	GAAAATACCTGT	GAAAGTGGCGGACCGT	TACACAGCTG	CTACTTTC	CTG	AAAGCA	TGGGTT	TTTAA	AAACAT	CCAACT	AGAACCT	GTGTT	CTG	GGCT	AACT	AGAACG	TTTCGGT	AG	
13. DWV_P2_Penz_Chernoyarsk	GAAAATACCTGT	GAAAGTGGCGGACCGT	TACACAGCTG	CTACTTTC	CTG	AAAGCA	TGGGTT	TTTAA	AAACAT	CCAACT	AGAACCT	GTGTT	CTG	GGCT	AACT	AGAACG	TTTCGGT	AG	
14. KX911819_Georgia	GAAAATACCTGT	GAAAGTGGCGGACCGT	TACACAGCTG	CTACTTTC	CTG	AAAGCA	TGGGTT	TTTAA	AAACAT	CCAACT	AGAACCT	GTGTT	CTG	GGCT	AACT	AGAACG	TTTCGGT	AG	
15. KX911818_Kyrgyzstan	GAAAATACCTGT	GAAAGTGGCGGACCGT	TACACAGCTG	CTACTTTC	CTG	AAAGCA	TGGGTT	TTTAA	AAACAT	CCAACT	AGAACCT	GTGTT	CTG	GGCT	AACT	AGAACG	TTTCGGT	AG	
16. MW266929_Syria	GAAAATACCTGT	GAAAGTGGCGGACCGT	TACACAGCTG	CTACTTTC	CTG	AAAGCA	TGGGTT	TTTAA	AAACAT	CCAACT	AGAACCT	GTGTT	CTG	GGCT	AACT	AGAACG	TTTCGGT	AG	
17. KJ437447_UK	GAAAATACCTGT	GAAAGTGGCGGACCGT	TACACAGCTG	CTACTTTC	CTG	AAAGCA	TGGGTT	TTTAA	AAACAT	CCAACT	AGAACCT	GTGTT	CTG	GGCT	AACT	AGAACG	TTTCGGT	AG	
18. HM067437_UK	GAAAATACCTGT	GAAAGTGGCGGACCGT	TACACAGCTG	CTACTTTC	CTG	AAAGCA	TGGGTT	TTTAA	AAACAT	CCAACT	AGAACCT	GTGTT	CTG	GGCT	AACT	AGAACG	TTTCGGT	AG	
19. MW397639_Israel	GAAAATACCTGT	GAAAGTGGCGGACCGT	TACACAGCTG	CTACTTTC	CTG	AAAGCA	TGGGTT	TTTAA	AAACAT	CCAACT	AGAACCT	GTGTT	CTG	GGCT	AACT	AGAACG	TTTCGGT	AG	
20. JF440526_jeromhanh_Israel	GAAAATACCTGT	GAAAGTGGCGGACCGT	TACACAGCTG	CTACTTTC	CTG	AAAGCA	TGGGTT	TTTAA	AAACAT	CCAACT	AGAACCT	GTGTT	CTG	GGCT	AACT	AGAACG	TTTCGGT	AG	
21. DWV_Be3157_Belgoud_Biyach	GAAAATACCTGT	GAAAGTGGCGGACCGT	TACACAGCTG	CTACTTTC	CTG	AAAGCA	TGGGTT	TTTAA	AAACAT	CCAACT	AGAACCT	GTGTT	CTG	GGCT	AACT	AGAACG	TTTCGGT	AG	
22. DWV_T11_Krasnod_Timash	GAAAATACCTGT	GAAAGTGGCGGACCGT	TACACAGCTG	CTACTTTC	CTG	AAAGCA	TGGGTT	TTTAA	AAACAT	CCAACT	AGAACCT	GTGTT	CTG	GGCT	AACT	AGAACG	TTTCGGT	AG	
23. JX878304_Korea	GAAAATACCTGT	GAAAGTGGCGGACCGT	TACACAGCTG	CTACTTTC	CTG	AAAGCA	TGGGTT	TTTAA	AAACAT	CCAACT	AGAACCT	GTGTT	CTG	GGCT	AACT	AGAACG	TTTCGGT	AG	
24. DWV_She_Pyazan	GAAAATACCTGT	GAAAGTGGCGGACCGT	TACACAGCTG	CTACTTTC	CTG	AAAGCA	TGGGTT	TTTAA	AAACAT	CCAACT	AGAACCT	GTGTT	CTG	GGCT	AACT	AGAACG	TTTCGGT	AG	
25. DWV_B1_Voronzh_Otrahn	GAAAATACCTGT	GAAAGTGGCGGACCGT	TACACAGCTG	CTACTTTC	CTG	AAAGCA	TGGGTT	TTTAA	AAACAT	CCAACT	AGAACCT	GTGTT	CTG	GGCT	AACT	AGAACG	TTTCGGT	AG	
26. DWV_12_Ryazan_Karil	GAAAATACCTGT	GAAAGTGGCGGACCGT	TACACAGCTG	CTACTTTC	CTG	AAAGCA	TGGGTT	TTTAA	AAACAT	CCAACT	AGAACCT	GTGTT	CTG	GGCT	AACT	AGAACG	TTTCGGT	AG	
27. DWV_1-2_Krasnoyok_Ostvatok	GAAAATACCTGT	GAAAGTGGCGGACCGT	TACACAGCTG	CTACTTTC	CTG	AAAGCA	TGGGTT	TTTAA	AAACAT	CCAACT	AGAACCT	GTGTT	CTG	GGCT	AACT	AGAACG	TTTCGGT	AG	
28. KP734600_Germany	GAAAATACCTGT	GAAAGTGGCGGACCGT	TACACAGCTG	CTACTTTC	CTG	AAAGCA	TGGGTT	TTTAA	AAACAT	CCAACT	AGAACCT	GTGTT	CTG	GGCT	AACT	AGAACG	TTTCGGT	AG	
29. KP734720_France	GAAAATACCTGT	GAAAGTGGCGGACCGT	TACACAGCTG	CTACTTTC	CTG	AAAGCA	TGGGTT	TTTAA	AAACAT	CCAACT	AGAACCT	GTGTT	CTG	GGCT	AACT	AGAACG	TTTCGGT	AG	
30. MT940256_USA	GAAAATACCTGT	GAAAGTGGCGGACCGT	TACACAGCTG	CTACTTTC	CTG	AAAGCA	TGGGTT	TTTAA	AAACAT	CCAACT	AGAACCT	GTGTT	CTG	GGCT	AACT	AGAACG	TTTCGGT	AG	
31. MT1415852_Italy	GAAAATACCTGT	GAAAGTGGCGGACCGT	TACACAGCTG	CTACTTTC	CTG	AAAGCA	TGGGTT	TTTAA	AAACAT	CCAACT	AGAACCT	GTGTT	CTG	GGCT	AACT	AGAACG	TTTCGGT	AG	
32. MN538209_DWV_B_Netherlands	GAAAATACCTGT	GAAAGTGGCGGACCGT	TACACAGCTG	CTACTTTC	CTG	AAAGCA	TGGGTT	TTTAA	AAACAT	CCAACT	AGAACCT	GTGTT	CTG	GGCT	AACT	AGAACG	TTTCGGT	AG	
33. KX783225_Belgium	GAAAATACCTGT	GAAAGTGGCGGACCGT	TACACAGCTG	CTACTTTC	CTG	AAAGCA	TGGGTT	TTTAA	AAACAT	CCAACT	AGAACCT	GTGTT	CTG	GGCT	AACT	AGAACG	TTTCGGT	AG	
34. DWV_P2_Rosov_Medich	GAAAATACCTGT	GAAAGTGGCGGACCGT	TACACAGCTG	CTACTTTC	CTG	AAAGCA	TGGGTT	TTTAA	AAACAT	CCAACT	AGAACCT	GTGTT	CTG	GGCT	AACT	AGAACG	TTTCGGT	AG	
35. DWV_P3_Rosov_Mileroov	GAAAATACCTGT	GAAAGTGGCGGACCGT	TACACAGCTG	CTACTTTC	CTG	AAAGCA	TGGGTT	TTTAA	AAACAT	CCAACT	AGAACCT	GTGTT	CTG	GGCT	AACT	AGAACG	TTTCGGT	AG	
36. KC786222_Type_B_China	GAAAUACU	AAAAGUGGCGGACCGU	UACACAGUCU	GUACUUCU	UUUAAA	CAU	GGGUGU	UUUAAAA	CAU	CCACUA	GACCU	UGU	UUUU	AGCU	AAACUU	GGACA	AGGU	UUUCGGU	AG

1. NC_004830_Type_A_Italy
2. J0413340_Type_A_Chili
3. DWV_A3_Arch_Nagorsk
4. DWV_A1_Vologod_Morozovo
5. DWV_B2_Voronezh_Teplichn
6. DWV_A4_Arch_Koshinskaya
7. KP734595_Poland
8. KP734635_Japan
9. KP734632_Australia
10. KP734683_Austria
11. KP734637_Guernsey
12. OL803822_Czech
13. DWV_PE2_Penz_Chemnyarsk
14. KK911819_Georgia
15. KK911818_Kyrgyzstan
16. MW265929_Syria
17. KJ437447_UK
18. HM067437_UK
19. MW397639_Israel
20. JF440526_recombinant_Israel
21. DWV_Bes3f57_Belgorod_Blyach
22. DWV_T11_Krasnod_Timash
23. JX878304_Korea
24. DWV_She_Ryazan
25. DWV_B1_Voronezh_Otradin
26. DWV_12_Ryazan_Kairi1
27. DWV_1-2_Krasnoyarsk_Ostysk
28. KP734600_Germany
29. KP734720_France
30. MT940256_USA
31. MT415952_Italy
32. MNS538209_DWV_B_Netherlands
33. KK783225_Belgium
34. DWV_P2_Rostov_Nedvich
35. DWV_P3_Rostov_Milnerovo
36. KC786222_Type_B_China

340 AAGGAAACCGACCGAAUUGGACUCCAUGCUCCGAGGAAUUGGGUCCGUCGUAACAGCAACCAUAGAANA AUGGCUAAAACAAGCGUUA
350 AAGGAAACCGACCGAAUUGGACUCCAUGCUCCGAGGAAUUGGGUCCGUCGUAACAGCAACCAUAGAANA AUGGCUAAAACAAGCGUUA
360 AAGGAAACCGACCGAAUUGGACUCCAUGCUCCGAGGAAUUGGGUCCGUCGUAACAGCAACCAUAGAANA AUGGCUAAAACAAGCGUUA
370 AAGGAAACCGACCGAAUUGGACUCCAUGCUCCGAGGAAUUGGGUCCGUCGUAACAGCAACCAUAGAANA AUGGCUAAAACAAGCGUUA
380 AAGGAAACCGACCGAAUUGGACUCCAUGCUCCGAGGAAUUGGGUCCGUCGUAACAGCAACCAUAGAANA AUGGCUAAAACAAGCGUUA
390 AAGGAAACCGACCGAAUUGGACUCCAUGCUCCGAGGAAUUGGGUCCGUCGUAACAGCAACCAUAGAANA AUGGCUAAAACAAGCGUUA
400 AAGGAAACCGACCGAAUUGGACUCCAUGCUCCGAGGAAUUGGGUCCGUCGUAACAGCAACCAUAGAANA AUGGCUAAAACAAGCGUUA
410 AAGGAAACCGACCGAAUUGGACUCCAUGCUCCGAGGAAUUGGGUCCGUCGUAACAGCAACCAUAGAANA AUGGCUAAAACAAGCGUUA

BQCV

Accession	Country	Genomic Coordinates	Sequence
1. MN397838	Israel	1-10	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
2. MH267894	Sweden	1-10	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
3. GJ825892	UK	1-10	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
4. KP271981	South Korea	1-10	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
5. KY243932	Chernih_Republic	1-10	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
6. China_KY741959		1-10	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
7. BQCV_2	Yononeni_Teplichin	1-10	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
8. BQCV_Bel3143	Belgorod_Bilvash	1-10	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
9. BQCV_1	Vononeni_Otratin	1-10	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
10. BQCV_A2	Ach_Veisk	1-10	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
11. BQCV_P2	Rosov_Medich	1-10	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
12. BQCV_T	Krasnod_Irnash	1-10	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
13. BQCV_1	France	1-10	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
14. MH68948	France	1-10	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
15. POLAND_5	EF517520	1-10	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
16. POLAND_5	EF517521	1-10	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
17. KY68685	Australia	1-10	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
18. KM49531	BQCV_China	1-10	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
19. NC_003784	South Africa	1-10	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
20. BQCV_She25	Ryazan	1-10	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
21. BQCV_T11	Krasnod_Irnash	1-10	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
1. MN397838	Israel	110-120	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
2. MH267894	Sweden	110-120	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
3. GJ825892	UK	110-120	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
4. KP271981	South Korea	110-120	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
5. KY243932	Chernih_Republic	110-120	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
6. China_KY741959		110-120	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
7. BQCV_2	Yononeni_Teplichin	110-120	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
8. BQCV_Bel3143	Belgorod_Bilvash	110-120	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
9. BQCV_1	Vononeni_Otratin	110-120	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
10. BQCV_A2	Ach_Veisk	110-120	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
11. BQCV_P2	Rosov_Medich	110-120	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
12. BQCV_T	Krasnod_Irnash	110-120	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
13. BQCV_1	France	110-120	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
14. MH68948	France	110-120	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
15. POLAND_5	EF517520	110-120	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
16. POLAND_5	EF517521	110-120	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
17. KY68685	Australia	110-120	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
18. KM49531	BQCV_China	110-120	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
19. NC_003784	South Africa	110-120	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
20. BQCV_She25	Ryazan	110-120	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC
21. BQCV_T11	Krasnod_Irnash	110-120	UGAAAGAAAACCGCAAAACAUVAAGGCGUCUAAUAAUUCGCGUVUUVUUCUAAUUGGACCAAAUAGAUVAACUUUGAUGGACCAAGAGUUAUUUCAAUCCCAAAUAGUVCAGAGUUAUUC

1. MW397638_Israel	CUUUGAAGG	UUUCGAG	UUCGGAAC	ACAGTC	CGAG	UAUAUU	GUUA	AGCGCGG	GAGAA	AGUU	CUA	CAG	GAGUU	GAGUA	AAGA	AAUA	UUUA	AA	CU	CA	CC	GAGG	AGU	GAUUUU	UGCA
2. MH267694_Sweden	CUUUGAAGG	UUUCGAG	UUCGGAAC	ACAGTC	CGAG	UAUAUU	GUUA	AGCGCGG	GAGAA	AGUU	CUA	CAG	GAGUU	GAGUA	AAGA	AAUA	UUUA	AA	CU	CA	CC	GAGG	AGU	GAUUUU	UGCA
3. GU825962_UK	CUUUGAAGG	UUUCGAG	UUCGGAAC	ACAGTC	CGAG	UAUAUU	GUUA	AGCGCGG	GAGAA	AGUU	CUA	CAG	GAGUU	GAGUA	AAGA	AAUA	UUUA	AA	CU	CA	CC	GAGG	AGU	GAUUUU	UGCA
4. KP271981_South_Korea	CUUUGAAGG	UUUCGAG	UUCGGAAC	ACAGTC	CGAG	UAUAUU	GUUA	AGCGCGG	GAGAA	AGUU	CUA	CAG	GAGUU	GAGUA	AAGA	AAUA	UUUA	AA	CU	CA	CC	GAGG	AGU	GAUUUU	UGCA
5. KY243932_Chech_Republic	CUUUGAAGG	UUUCGAG	UUCGGAAC	ACAGTC	CGAG	UAUAUU	GUUA	AGCGCGG	GAGAA	AGUU	CUA	CAG	GAGUU	GAGUA	AAGA	AAUA	UUUA	AA	CU	CA	CC	GAGG	AGU	GAUUUU	UGCA
6. China_KY741939	CUUUGAAGG	UUUCGAG	UUCGGAAC	ACAGTC	CGAG	UAUAUU	GUUA	AGCGCGG	GAGAA	AGUU	CUA	CAG	GAGUU	GAGUA	AAGA	AAUA	UUUA	AA	CU	CA	CC	GAGG	AGU	GAUUUU	UGCA
7. BOCV_2_Voronezh_Teplichn	CUUUGAAGG	UUUCGAG	UUCGGAAC	ACAGTC	CGAG	UAUAUU	GUUA	AGCGCGG	GAGAA	AGUU	CUA	CAG	GAGUU	GAGUA	AAGA	AAUA	UUUA	AA	CU	CA	CC	GAGG	AGU	GAUUUU	UGCA
8. Bulbania_MG849502	CUUUGAAGG	UUUCGAG	UUCGGAAC	ACAGTC	CGAG	UAUAUU	GUUA	AGCGCGG	GAGAA	AGUU	CUA	CAG	GAGUU	GAGUA	AAGA	AAUA	UUUA	AA	CU	CA	CC	GAGG	AGU	GAUUUU	UGCA
9. BOCV_Be3143_Belgorod_Bivach	CUUUGAAGG	UUUCGAG	UUCGGAAC	ACAGTC	CGAG	UAUAUU	GUUA	AGCGCGG	GAGAA	AGUU	CUA	CAG	GAGUU	GAGUA	AAGA	AAUA	UUUA	AA	CU	CA	CC	GAGG	AGU	GAUUUU	UGCA
10. BOCV_1_Voronezh_Otrachn	CUUUGAAGG	UUUCGAG	UUCGGAAC	ACAGTC	CGAG	UAUAUU	GUUA	AGCGCGG	GAGAA	AGUU	CUA	CAG	GAGUU	GAGUA	AAGA	AAUA	UUUA	AA	CU	CA	CC	GAGG	AGU	GAUUUU	UGCA
11. BOCV_A2_Arch_Veisk	CUUUGAAGG	UUUCGAG	UUCGGAAC	ACAGTC	CGAG	UAUAUU	GUUA	AGCGCGG	GAGAA	AGUU	CUA	CAG	GAGUU	GAGUA	AAGA	AAUA	UUUA	AA	CU	CA	CC	GAGG	AGU	GAUUUU	UGCA
12. BOCV_P2_Rostov_Nedvich	CUUUGAAGG	UUUCGAG	UUCGGAAC	ACAGTC	CGAG	UAUAUU	GUUA	AGCGCGG	GAGAA	AGUU	CUA	CAG	GAGUU	GAGUA	AAGA	AAUA	UUUA	AA	CU	CA	CC	GAGG	AGU	GAUUUU	UGCA
13. BOCV_T1_Krasnod_Timashn	CUUUGAAGG	UUUCGAG	UUCGGAAC	ACAGTC	CGAG	UAUAUU	GUUA	AGCGCGG	GAGAA	AGUU	CUA	CAG	GAGUU	GAGUA	AAGA	AAUA	UUUA	AA	CU	CA	CC	GAGG	AGU	GAUUUU	UGCA
14. AV669948_France	CUUUGAAGG	UUUCGAG	UUCGGAAC	ACAGTC	CGAG	UAUAUU	GUUA	AGCGCGG	GAGAA	AGUU	CUA	CAG	GAGUU	GAGUA	AAGA	AAUA	UUUA	AA	CU	CA	CC	GAGG	AGU	GAUUUU	UGCA
15. POLAND-5_EF517520	CUUUGAAGG	UUUCGAG	UUCGGAAC	ACAGTC	CGAG	UAUAUU	GUUA	AGCGCGG	GAGAA	AGUU	CUA	CAG	GAGUU	GAGUA	AAGA	AAUA	UUUA	AA	CU	CA	CC	GAGG	AGU	GAUUUU	UGCA
16. POLAND-EF517521	CUUUGAAGG	UUUCGAG	UUCGGAAC	ACAGTC	CGAG	UAUAUU	GUUA	AGCGCGG	GAGAA	AGUU	CUA	CAG	GAGUU	GAGUA	AAGA	AAUA	UUUA	AA	CU	CA	CC	GAGG	AGU	GAUUUU	UGCA
17. KY465685_Australia	CUUUGAAGG	UUUCGAG	UUCGGAAC	ACAGTC	CGAG	UAUAUU	GUUA	AGCGCGG	GAGAA	AGUU	CUA	CAG	GAGUU	GAGUA	AAGA	AAUA	UUUA	AA	CU	CA	CC	GAGG	AGU	GAUUUU	UGCA
18. JX149531-BOCV-China	CUUUGAAGG	UUUCGAG	UUCGGAAC	ACAGTC	CGAG	UAUAUU	GUUA	AGCGCGG	GAGAA	AGUU	CUA	CAG	GAGUU	GAGUA	AAGA	AAUA	UUUA	AA	CU	CA	CC	GAGG	AGU	GAUUUU	UGCA
19. NC_003784_South_Africa	CUUUGAAGG	UUUCGAG	UUCGGAAC	ACAGTC	CGAG	UAUAUU	GUUA	AGCGCGG	GAGAA	AGUU	CUA	CAG	GAGUU	GAGUA	AAGA	AAUA	UUUA	AA	CU	CA	CC	GAGG	AGU	GAUUUU	UGCA
20. BOCV_She25_Razzan	CUUUGAAGG	UUUCGAG	UUCGGAAC	ACAGTC	CGAG	UAUAUU	GUUA	AGCGCGG	GAGAA	AGUU	CUA	CAG	GAGUU	GAGUA	AAGA	AAUA	UUUA	AA	CU	CA	CC	GAGG	AGU	GAUUUU	UGCA
21. BOCV_T11_Krasnod_Timashn	CUUUGAAGG	UUUCGAG	UUCGGAAC	ACAGTC	CGAG	UAUAUU	GUUA	AGCGCGG	GAGAA	AGUU	CUA	CAG	GAGUU	GAGUA	AAGA	AAUA	UUUA	AA	CU	CA	CC	GAGG	AGU	GAUUUU	UGCA

SBV

Accession	Country	Region	Genomic Coordinates
1. SBV_A2_Arch_Veikr	Iceland	Arch	1-10
2. SBV_Sine_Rhazan	Russia	Siberia	10-20
3. SBV_A1_Vologod_Morozov	Russia	Vologod	20-30
4. SBV_Bel_Belgorod_Ion	Belarus	Belgorod	30-40
5. SBV_B1_Voronozh_Otrakh	Belarus	Voronozh	40-50
6. SBV_I16_Rostov_Chelk	Russia	Rostov	50-60
7. SBV_T14_Krasnod_Timash	Russia	Krasnod	60-70
8. SBV_P1E1_Pezh_Chenomysk	Russia	Chenomysk	70-80
9. SBV_K2_Krasnoyarsk_Ostynsk	Russia	Krasnoyarsk	80-90
10. JS. SBV_Rostov_Region	Russia	Rostov	90-100
11. AN832573_Russia_Moscow_Region	Russia	Moscow	100-110
12. LN875665_Mongolia	Mongolia		110-120
13. LN875665_Mongolia	Mongolia		120-130
14. AF939294_UK	United Kingdom		130-140
15. AF939294_UK	United Kingdom		140-150
16. AF939294_UK	United Kingdom		150-160
17. AF939294_UK	United Kingdom		160-170
18. AF939294_UK	United Kingdom		170-180
19. AF939294_UK	United Kingdom		180-190
20. AF939294_UK	United Kingdom		190-200
21. AF939294_UK	United Kingdom		200-210
22. AF939294_UK	United Kingdom		210-220
23. AF939294_UK	United Kingdom		220-230
24. AF939294_UK	United Kingdom		230-240

KBV

	1	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
KBV-1	AACGTCGACCCTATTGAAAAAAGTTAAATCCAATTGAAAAACACCGAGTGTCTTCCAATGGACC	AAATGGACC	CAATGGAC	CAATGGAC	CAATGGAC	CAATGGAC	CAATGGAC	CAATGGAC	CAATGGAC	CAATGGAC	CAATGGAC
KBV-2	AACGTCGACCCTATTGAAAAAAGTTAAATCCAATTGAAAAACACCGAGTGTCTTCCAATGGACC	AAATGGACC	CAATGGAC	CAATGGAC	CAATGGAC	CAATGGAC	CAATGGAC	CAATGGAC	CAATGGAC	CAATGGAC	CAATGGAC
KBV-3	AACGTCGACCCTATTGAAAAAAGTTAAATCCAATTGAAAAACACCGAGTGTCTTCCAATGGACC	AAATGGACC	CAATGGAC	CAATGGAC	CAATGGAC	CAATGGAC	CAATGGAC	CAATGGAC	CAATGGAC	CAATGGAC	CAATGGAC
KBV-1	CATTTGATGGAAAAATCCGAATTACCTAAATGAGGTTGCCATTGGAAACGAAATGTTGTA	TTCCTC	AAGAGAC	TGGAGT	AAACCT	GTTCG	CAAGT	GAAGT	GAAGT	GAAGT	GAAGT
KBV-2	CATTTGATGGAAAAATCCGAATTACCTAAATGAGGTTGCCATTGGAAACGAAATGTTGTA	TTCCTC	AAGAGAC	TGGAGT	AAACCT	GTTCG	CAAGT	GAAGT	GAAGT	GAAGT	GAAGT
KBV-3	CATTTGATGGAAAAATCCGAATTACCTAAATGAGGTTGCCATTGGAAACGAAATGTTGTA	TTCCTC	AAGAGAC	TGGAGT	AAACCT	GTTCG	CAAGT	GAAGT	GAAGT	GAAGT	GAAGT
KBV-1	TATTCGAGGTGATTTTTCCAACTTTTGGATGGATCCACTGAAATGTAATTAATGGAAAAA	TTTTCG	AGATTT	AGATTT	AGATTT	AGATTT	AGATTT	AGATTT	AGATTT	AGATTT	AGATTT
KBV-2	TATTCGAGGTGATTTTTCCAACTTTTGGATGGATCCACTGAAATGTAATTAATGGAAAAA	TTTTCG	AGATTT	AGATTT	AGATTT	AGATTT	AGATTT	AGATTT	AGATTT	AGATTT	AGATTT
KBV-3	TATTCGAGGTGATTTTTCCAACTTTTGGATGGATCCACTGAAATGTAATTAATGGAAAAA	TTTTCG	AGATTT	AGATTT	AGATTT	AGATTT	AGATTT	AGATTT	AGATTT	AGATTT	AGATTT
KBV-1	TGATTAGACACCGTGTGTTGATGGATGTCACCAATTCCTGTACACATCTGCAATGAC	TCCG	TGATTA	TGATTA	TGATTA	TGATTA	TGATTA	TGATTA	TGATTA	TGATTA	TGATTA
KBV-2	TGATTAGACACCGTGTGTTGATGGATGTCACCAATTCCTGTACACATCTGCAATGAC	TCCG	TGATTA	TGATTA	TGATTA	TGATTA	TGATTA	TGATTA	TGATTA	TGATTA	TGATTA
KBV-3	TGATTAGACACCGTGTGTTGATGGATGTCACCAATTCCTGTACACATCTGCAATGAC	TCCG	TGATTA	TGATTA	TGATTA	TGATTA	TGATTA	TGATTA	TGATTA	TGATTA	TGATTA

IAPV

IAPV_Belgorod_region	1	10	20	30	40	50	60	70	80	90
IAPV_Belgorod_region	TATGTATGGACACAAATTTCTTGA	AATGGCCAACTGGTGTCCGAGGAGGAC	TTGACATTCBAAGGTTACAAAATTTGAA	TTGTGAAATTTGCAAAATGCAATTTATGGAG	TATGTATGGACACAAATTTCTTGA	AAATGGCCAACTGGTGTCCGAGGAGGAC	TTGACATTCBAAGGTTACAAAATTTGAA	TTGTGAAATTTGCAAAATGCAATTTATGGAG		
IAPV_Belgorod_region	100	110	120	130	140	150	160	170	180	190
IAPV_Belgorod_region	CTTCCATGCATGAAGAGAGCGCTTT	TTTAACTGGTCTAAAAATTAATTGAC	CCGAGCATATGCAAAATGCCACTGGG	GATCAATAACCACTTA						
IAPV_Belgorod_region	200	210	220	230	240	250	260	270	280	290
IAPV_Belgorod_region	TCGTGGTATGCTCAGGAGCGGATTT	CTCTGGAACTATATGTAATAATATAG	TGTCTCGAGGCATCATTCTATGTTACC	CACTTATAGAGGAAATTTCC						
IAPV_Belgorod_region	300	310	320	330	340	350	360	370	380	390
IAPV_Belgorod_region	AATAACTCTGGTGTAAAGGCTTAGA	GTGATGGGGAAGGTCGAGGTCGCCCT	TATTTAGGGTGAAGCCTCGGTGGCA	CGCCCAACCAATCCTCTATTGGATAG	GA					
IAPV_Belgorod_region	400	410	420	430	440	450	460	470	480	490
IAPV_Belgorod_region	AATAAATCTCTGGTGTAAAGGCTTAGA	GTGATGGGGAAGGTCGAGGTCGCCCT	TATTTAGGGTGAAGCCTCGGTGGCA	CGCCCAACCAATCCTCTATTGGATAG	GA					
IAPV_Belgorod_region	500	510	520	530	540	550	560	570	580	590
IAPV_Belgorod_region	ACAGCTGTACTGGGCAGTTACAGCAG	TCCGTATGTTAAACACACATGCGCG	CTTCCGAAATACATATGCCCTGGT	GATTTCACCAACAAGAAAGCAATAC	TCCAA					
IAPV_Belgorod_region	600	610	620	630	640	650	660	670	680	690
IAPV_Belgorod_region	CGTACACAATACGGAACCTCGCTTC	GTCCACTAAGTGAANAACCTCGATT	GAGACTCAAGAAATCAACAACCTT	TCATGATGGAAACTCCAAAATAG	GATCG					
IAPV_Belgorod_region	700	710	720	730	740	750	760	770	780	790
IAPV_Belgorod_region	ATACCCCATGGCTCAGGATACCTTCA	TCCGCTAGGAAACATGGATGATAC	CGACAGTAATTAATTCAGTTTCTA	CAAGCCCGCTTCCTCAATGACA	CAAT					
IAPV_Belgorod_region	800	810	820	830	840	850	860	870	880	890
IAPV_Belgorod_region	GAGATCATTCCTGGAACTAC									
IAPV_Belgorod_region	GAGATCATTCCTGGAACTAC									

**Приложение 3. Перечень номеров секвенированных нами
последовательностей в базе GenBank**

OL314253	2A_Belgorod	Acute bee paralysis virus	
OL314254	1_Belgorod	Black queen cell virus	
OL314255	1D_Belgorod	Deformed wing virus	
OL314256	1_Belgorod	Israeli acute paralysis virus	
OL314257	3_Kashmir	bee virus	
OL314258	2S	Sacbrood virus	
PP133126	B1_Voronezh	Otradn	BQCV
PP133127	A2_Arch	Velsk	BQCV
PP133128	P2_Rostov	Nedvich	BQCV
PP133129	T_Krasnod	Timash	BQCV
PP133130	Be3/143_Belgorod	Bilyach	BQCV
PP133131	B2_Voronezh	Teplichn	BQCV
PP133132	She25	Ryazan	BQCV
PP108047	A3_Arch	Nagorsk	ABPV
PP108048	A1_Vologod	Morozovo	ABPV
PP108049	B2_Voronezh	Teplichn	ABPV
PP108050	A4_Arch	Kostinskaya	ABPV
PP108051	PE2_Penz	Chernoyarsk	ABPV
PP108052	Be3/157_Belgorod	Bilyach	ABPV
PP108053	T11_Krasnod	Timash	ABPV
PP108054	P3_Rostov	Millerovo	ABPV
PP108055	T1_Krasnod	Timash	ABPV
PP108056	She19_Ryazan	Shavyrl	ABPV
PP108057	Pe2_Penz	Chernoyarsk	ABPV

PP108058	1-7_Krasnoyarsk_Ostyatsk	ABPV
PP329843	A3_Arch_Nagorsk	DWV
PP329844	A1_Vologod_Morozovo	DWV
PP329845	B2_Voronezh_Teplichn	DWV
PP329846	A4_Arch_Kostinskaya	DWV
PP329847	PE2_Penz_Chernoyarsk	DWV
PP329848	Be3/157_Belgorod_Bilyach	DWV
PP329849	T11_Krasnod_Timash	DWV
PP329850	She_Ryazan	DWV
PP329851	B1_Voronezh_Otradm	DWV
PP329852	12_Ryazan_Karl1	DWV
PP329853	1-2_Krasnoyarsk_Ostyatsk	DWV
PP329854	P2_Rostov_Nedvich	DWV
PP329855	P3_Rostov_Millerovo	DWV
PP329856	A2_Arch_Velsk	SBV
PP329857	She17_Ryazan	SBV
PP329858	A1_Vologod_Morozovo_23	SBV
PP329859	Be1_Belgorod_Ion	SBV
PP329860	B1_Voronezh_Otradm	SBV
PP329861	1/6_Rostov_Chalt	SBV
PP329862	T-14_Krasnod_Timash	SBV
PP329863	PE1_Penz_Chernoyarsk	SBV
PP329864	K2_Krasnoyarsk_Ostyatsk	SBV
PP329865	KBV-1	KBV
PP329866	KBV-2	KBV
PP329867	KBV-3	KBV