



DOI 10.32900/2312-8402-2023-129-131-140

УДК 638.152.154.2

ДІАГНОСТИЧНІ ЗАХОДИ ЩОДО ВІРУСНИХ ХВОРОБ БДЖІЛ У СУЧАСНІЙ ВІТЧИЗНЯНІЙ ТЕХНОЛОГІЧНІЙ СХЕМІ ЇХ УТРИМАННЯ ТА РОЗВЕДЕННЯ

Маслій І. Г., к. вет. н., с. н. с., <https://orcid.org/0000-0002-8671-3356>

Інститут тваринництва НААН

Забезпечити належне функціонування галузі бджільництва здатні лише найблагополучніші у ветеринарно-санітарному відношенні пасіки. Для цього необхідно проводити своєчасно і в повному обсязі діагностичні виробничі й лабораторні заходи з метою виявлення збудників хвороб бджіл та недопущення їх поширення. Одним із сучасних високоточних методів є полімеразно ланцюгова реакція за використання специфічних праймерів. Цей метод аналізу досить широко застосовують у багатьох країнах світу задля діагностики вірусних хвороб бджіл.

Метою проведеного дослідження є порівняльна оцінка застосування двох методів: епізоотологічного обстеження в польових умовах та діагностування вірозів за допомогою ПЛР зі специфічними праймерами до ентомопатогенних вірусів. У рамках експерименту досліджено 162 зразки патологічного матеріалу із 17 областей України. За результатами трирічного епізоотологічного обстеження, клінічного огляду сімей та диференційної діагностики відібрано 146 зразків патологічного матеріалу для дослідження ПЛР.

Із 146 зразків, що досліджувались за ПЛР, позитивними виявились лише 51, що становить 34,9 %. Це підтверджує складність встановлення діагнозу на вірусні захворювання бджіл за клінічними ознаками. Аналізуючи отримані результати упродовж років досліджень варто відмітити, що найменшу кількість позитивних випадків ураження бджіл вірусними агентами за результатами ПЛР фіксували в 2015 році – 9 проб (17,6 %) випадків, найбільшу – у 2016 році – 27 (52,9%). За визначенням питомої частки кожного з досліджуваних вірусів установлено, що найпоширенішими у 2014 році були хронічний параліч (26,7 %) та мішечкуватий розплід (46,7 %), у 2015 році – мішечкуватий розплід (66,7 %), у 2016 році – хронічний параліч та мішечкуватий розплід. Це свідчить про те, що в Україні на сьогодні ще недостатньо розроблена ефективна та якісна діагностика вірусних інфекцій окрім вірусної хвороби розплоду.

Ключові слова: вірусні хвороби бджіл, епізоотологічний, клінічний метод досліджень, полімеразно-ланцюгова реакція.

Галузь бджільництва України є важливою складовою економіки держави і базою для сталого розвитку фармацевтичної й харчової галузей, а також рослинництва, основою господарської діяльності якої є розведення, утримання й використання бджіл для запилення ентомофільних рослин сільськогосподарського призначення та підвищення їх урожайності [1].

Забезпечити належне функціонування галузі здатні лише найблагополучніші у ветеринарно-санітарному відношенні пасіки. Тому надто важливо створювати сприятливі умови утримання, годівлі та розведення бджолиних сімей з метою отримання продуктів бджільництва найбільш повноцінних як у кількісному, так і якісному сенсі; здійснювати профілактичні, а також у разі потреби, вимушені, поточні та заключні дезінфекційні заходи задля знищення збудників усіх видів захворювань у доквіллі та вулику; проводити своєчасно та повною мірою діагнос-



тичні виробничі та лабораторні заходи для виявлення збудників хвороб бджіл та недопущення їх поширення. Проте недостатнє ветеринарне забезпечення, що призводить до неконтрольованого поширення хвороб бджіл, стримує розвиток галузі, і як наслідок, зумовлює недотримання продукції бджільництва [2].

Серед чисельної кількості патогенів, що уражають бджіл виділяються віруси. Усі форми життя піддаються нападам вірусів, а отже і бджоли заражаються значною різноманітністю цих типів. На сьогодні описано більше 20 вірусів, виділених із медоносної бджоли. Вони поширюються двома шляхами: горизонтальним (комаха заражується вірусом, споживаючи забруднені субстрати) і вертикальним (від батьків нащадкам).

Одна з дивовижних особливостей вірусів комах – їхня здатність зберігатися в організмі господаря в латентному стані протягом чисельних генерацій. У цьому вірусам бракує видимих симптомів. Однак вони можуть бути активовані будь-яким внутрішнім або зовнішнім чинником, що призводить до прискореного синтезу та появи симптомів хвороби [3, 4].

Діагностику вірозів ускладнює, по-перше, відсутність специфічних клінічних ознак. На жаль, за кількома винятками, симптоми, які можна було б надійно використати для підтвердження наявності певного вірусу, відсутні. Такі прояви, як «розкрилиця», посмикування крил і лапок, зменшення та втягнення або збільшення, затвердіння, почорніння черевця, втрата волосин на ньому можуть виникати і за інших хвороб. По-друге, перебіг захворювання у латентній формі не дає змоги поставити діагноз вчасно та правильно. По-третє, практично не розроблено вірусологічний метод дослідження, а саме культивування ентомопатогенних вірусів «*in vitro*» аналогічно до вірусів свійських тварин і птахів, внаслідок чого вони мало вивчені. Віруси медоносних бджіл є надзвичайно специфічними, їх не можна культивувати в інших комах або в культурі їх клітинних тканин. Це створює певні проблеми у вірусологічних дослідженнях, за яких надто важливо повністю оцінити практичні труднощі розмноження вірусів. Вони розмножуються лише в бджолах і особини в популяції можуть бути неочевидно інфіковані будь-яким із кількох різних вірусів.

Світова практика свідчить про те, що в лабораторних умовах ідентифікувати збудників вірозів бджіл можна за допомогою електронно-мікроскопічного методу дослідження. Проте більшість вірусів бджіл – це малі ікосаедричні частинки діаметром близько 30 нм і електронну мікроскопію їй не можливо використовувати для розрізнення вірусів медоносних бджіл розміром 30 нм, вона є корисною допомогою для розпізнавання характерного розміру або форми вірусу. Ниткоподібний вірус легко виявити цим способом в екстрактах хворих бджіл, але цей метод для рутинного аналізу.

Існують серологічні методи – імунодифузії, імуноферментного аналізу, електрофорезу в поліакриламідному гелі тощо. Проте їх застосування обтяжує складна та довготривала підготовка компонентів реакцій.

Одним із сучасних та високоточних методів діагностики є полімеразно ланцюгова реакція за використання специфічних праймерів. Цей метод аналізу досить широко застосовують у багатьох країнах світу з метою діагностики вірусних хвороб бджіл [5–8].

Мета роботи – провести порівняльну оцінку методів діагностики вірозів бджіл за допомогою ПЛР та використання епізоотологічного обстеження сімей в польових умовах.

Матеріали та методи досліджень. Ураження сімей бджіл ентомопатогенними вірусами визначали за загальноприйнятими у епізоотології методами: епізо-



отологічним, клінічним та патологоанатомічним [9, 10]. Епізоотичне обстеження включало проведення моніторингу щодо виявлення хвороб бджіл. Ці дослідження виконували за наступною схемою: аналіз поширення захворювань на початку обстеження; проведення досліджень і спостережень на неблагополучних пасіках, виявлення форм прояву та перебігу інфекційних хвороб розплоду бджіл та імаго бджіл; дослідження клінічних ознак і попередня постановка діагнозу, відбір зразків для лабораторних досліджень; аналіз отриманих результатів.

У процесі епізоотологічних досліджень здійснювали аналіз ветеринарно-санітарного стану пасік та окремих бджолиних сімей. При цьому встановлювали ступінь ротації стільників, термін їх експлуатації в бджолиних гніздах, кількість відбудованих стільників протягом сезону, кількість роїв та відводків, сформованих за сезон. Попередні діагностичні дослідження на наявність інфекційних захворювань проводили методом клінічного огляду бджолиного гнізда, стану різновікового розплоду, тобто наявності яєць, личинок різного віку та загиблих, вираженої «строкатості розплоду» і продірявлених кришечок, специфічного запаху, та інших клінічних ознак. Клінічні дослідження включали візуальний огляд розплоду. Зразки стільників з ураженим розплодом з «клінічними» ознаками відсилали до лабораторії ветеринарної медицини. За проведення епізоотологічних досліджень на пасіках і клінічному огляді бджолиних сімей, у разі виявлення ознак загибелі особин, здійснювали відбір патологічного матеріалу [11, 12].

Патологічний матеріал відбирали з тих сімей бджіл, у особин яких у процесі епізоотологічного обстеження реєстрували також «специфічні клінічні» ознаки вірусних хвороб імаго. Таких бджіл, ще живих, личинок або лялечок у кількості до 100–150 штук, збирали та направляли до лабораторії, де відібрані зразки зберігали в умовах морозильної камери побутового холодильника за температури мінус 18 °С.

Дослідження виконували упродовж 2014–2016 років. Загалом на дослідження надійшло 162 зразки патологічного матеріалу із 17-ти областей України. Зокрема, упродовж весни-осені 2014 року з підозрою на хвороби імаго бджіл надійшло 56 зразків. Матеріал доставляли з пасік, що розташовані у Вінницькій, Волинській, Донецькій, Запорізькій, Луганській Львівській, Полтавській, Сумській, Харківській, Херсонській та Чернігівській областях. У 2015 році надійшло 60 зразків із пасік Донецької, Дніпропетровської, Київської, Запорізької, Одеської, Харківської, Черкаської та Чернігівської області. За 2016 рік було досліджено 40 зразків патологічного матеріалу, що надійшов із Запорізької, Дніпропетровської, Сумської, Харківської, Чернігівської областей.

Дослідження за допомогою ПЛР проводили у лабораторії молекулярної епізоотології та діагностики ННЦ «ІЕКВМ». Для молекулярно-генетичних досліджень у пробірки відбирали по три бджоли або дві личинки/лялечки з кожного зразка. Підготовку матеріалу для дослідження здійснювали наступним чином: 300 мкг (3 бджоли або 2 личинки/лялечки) розтирали з невеликою кількістю стерильного піску [13]. Гомогенат тканин переносили в пробірки Епіндорфа, об'ємом 1,5 см³. РНК вірусів екстрагували зі зразка сухих сорбентних тканин після попередньої обробки протеїназою К (0,1% розчин, 56 °С, 24 ч.). ДНК отримували із зразків РНК шляхом зворотної транскрипції за використання комерційних наборів. Зворотну транскрипцію, ампліфікацію здійснювали за застосування базових наборів GenPak PCR-Core.

Системи праймерів ABPV_F/R, CBPV_F/R, DWV_F/R, SBV_F/R були придбані в лабораторії хвороб бджіл Національного інституту ветеринарії (Piwet., Pulawy, Польща) Sylwia Kasprzak [14, 15].



Температура відпалу становила 55 0С у всіх випадках. Критерієм оптимального показника була чітка візуалізація аплікону. Ставили не менше трьох негативних контролів на етапі виділення ДНК та зворотної транскрипції.

Електрофоретичний аналіз проводили, використовуючи набір для електрофорезу виробництва фірми Amresco, США. Концентрація агарози в гелі – 1,5%, напруга – 120 В. Облік реакції здійснювали шляхом аналізу електрофоретичних продуктів ампліфікації в УФ-світлі 312 нм.

У процесі постановки ПЛР використовували такі праймери для вірусів:

- гострого паралічу (ABPV) – F: 5'-ttatgtgtccagagactgtatcca-3', R: 5'-gctcctattgctcggttttcgggt-3', з довжиною аплікону 900 п.н.;
- хронічного паралічу (CBPV): – F: 5'-tcagacaccgaatctgattattg-3', R: 5'-actactagaaactcgtcgttcg-3' з довжиною аплікону 570 п.н.;
- деформації крила (DWV) –F: 5'-atcagcgcttagtgaggaa-3', R: 5'-tcgacaatttcgggatca-3' з довжиною аплікону 711 п.н.;
- мішечкуватого розплоду (SBV) – F: 5'-ggatgaaaggaaattaccag-3', R: 5'-ссactaggtgatccasact-3' з довжиною аплікону 426 п.н. [16-18]

Наявність смужки, що відповідає за електрофоретичною рухливістю позитивному контролю, свідчило про присутність зазначених вірусів. Отримані результати документували фотографуванням гелів за використання світлофільтру або комп'ютерних систем із цифровими відеокамерами.

Результати досліджень. У процесі огляду ще живих, а також загиблих бджіл було виявлено такі ознаки порушення будови їх тіла (рис. 1 а); б); в); г); д).

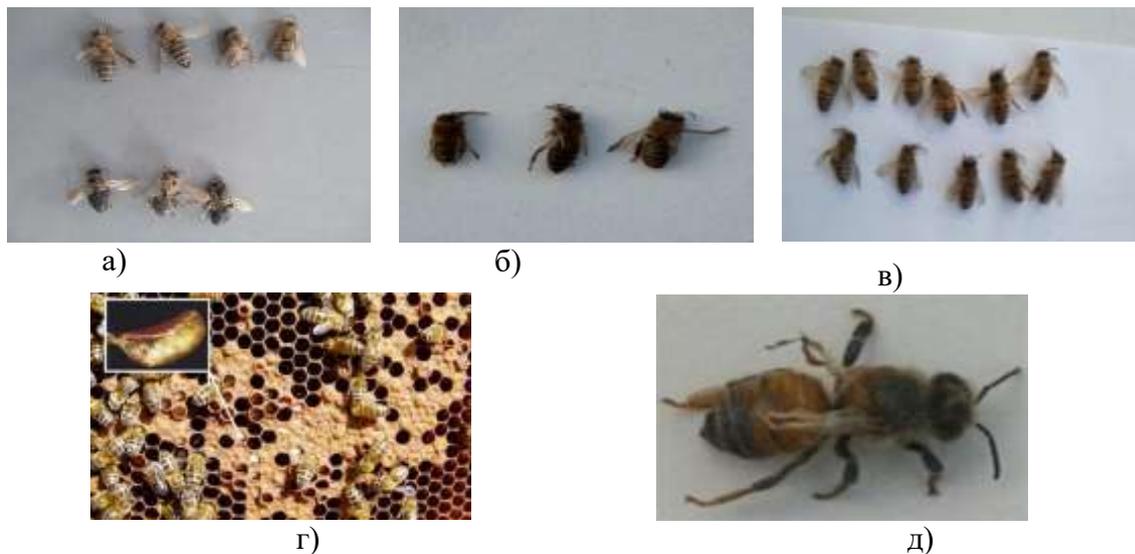


Рис. 1. Характерні клінічні ознаки вірозів бджіл: а) «розкрилиця»; б) почорніння та блиск черевця; в) втрата волосків на черевці; г) строкатий розплід, мішечок з рідиною; д) деформація крил.

У 162 зразках патологічного матеріалу за результатами трирічного періоду з використанням методів епізоотологічного обстеження, клінічного огляду сімей виявлено схожі клінічні ознаки, що наведено на рисунку. 1. Попередній діагноз встановлювався за такими, подібними при багатьох інших хворобах, окрім деяких специфічних, зокрема наявності деформованих крих при хворобі деформації крила, а також загиблих личинок у вигляді мішечку з рідиною при мішечкуватому розпліді [11, 12].



Так, в подальшому, застосовуючи метод диференційної діагностики відібрано 146 (90,1 % від загальної кількості проб) зразків проб патологічного матеріалу для дослідження за допомогою ПЛР. Узагальнені дані щодо епізоотологічного моніторингу бджіл наведено в табл. 1.

Таблиця 1

Узагальнені результати епізоотологічного моніторингу

Показник	2014		2015		2016		Загалом за 2014–2016 рр.	
	зраз-ків	%	зраз-ків	%	зраз-ків	%	зраз-ків	%
Загалом надійшло проб	56	34,6	60	37,0	46	28,4	162	100
Загалом досліджено в ПЛР:	50	34,25	50	34,25	46	31,5	146	90,1
Із них позитивних	15	29,5	9	17,6	27	52,9	51	34,9

Як свідчать дані табл. 1, із 146 проб у процесі полімеразно-ланцюгового аналізу позитивними виявився 51 (34,9 %). Найбільша кількість позитивних проб реєструвалась у 2016 році та становила 27 (52,9 %), найменша – у 2015 році – 9 (17,6 %)

У 2014 році із 50 зразків, що надійшли до лабораторії із сімей з клінічними ознаками вірусів, у 15 зразках виявили продукти ампліфікації вірусів бджіл.

У 2015 році за клінічними ознаками попередньо встановлено діагноз на вірози у 50 зразках, зі них позитивними за ПЛР виявилися 9 зразків.

У 2016 році зареєстровано 46 позитивних випадків клінічного прояву вірусів, з яких молекулярно-генетичними дослідженнями виявлено генетичний матеріал вірусів у 27 зразках.

Аналіз отриманих результатів доводить, що несприятливі умови довкілля та дефіцит корму викликають активізацію та посилення розмноження вірусів. У першому півріччі 2016 року в Україні спостерігали екстремальні погодні умови. Тривалий сезон дощів і похолодання створили ситуацію, коли бджоли не змогли природним шляхом отримати достатньо корму. У цей рік було зареєстровано максимальну кількість випадків захворювання бджіл вірусними хворобами (27) із найменшої кількості зразків, що надійшли на дослідження (46).

Найбільша кількість позитивних проб була виділена на мішечкуватий розплід – 27 (52,9 %), найменша – гострий параліч та деформації крила – по 5 (9,8 %). За визначення питомої частки кожного з досліджуваних вірусів встановлено, що найпоширенішими у 2014 році були хронічний параліч (26,7 %) та мішечкуватий розплід (46,7 %), у 2015 – мішечкуватий розплід (66,7 %), у 2016 – хронічний параліч (37,0%) та мішечкуватий розплід (51,9%).

Дані щодо питомої частки кожного вірозу у структурі вірусних захворювань бджіл наведені у таблиці 2.

У 2014 році із 15 проб, що були відібрані для дослідження у ПЛР продукти ампліфікації вірусу гострого паралічу виявили у 4 зразках (26,7 %), хронічного – 3 (20,0 %), деформації крила – 1 (6,7 %), мішечкуватого розпліду – 7 (46,6 %).

У 2015 році із позитивних за ПЛР 9 зразках віруси деформації крила, гострого та хронічного паралічу бджіл були встановлені в одній пробі (11,1 %), мішечкуватого розпліду – 6 (66,7 %).

Питома частка вірусів у структурі хвороб бджіл по роках

Показник	2014		2015		2016		Всього
	зраз-ків	%	зраз-ків	%	зраз-ків	%	
Загалом позитивних	15	100	9	100	27	100	51
Гострий параліч	4	26,7	1	11,1	–	–	5
Хронічний параліч	3	20,0	1	11,1	10	37,0	14
Хвороба деформації крила	1	6,7	1	11,1	3	11,1	5
Мішечкуватий розплід	7	46,6	6	66,7	14	51,9	27

У 2016 році молекулярно-генетичним дослідженням виявлено генетичний матеріал вірусів у 27 зразках, а саме: хронічного паралічу бджіл – 10 проба (37 %), деформації крила – 3 (11,1 %), мішечкуватого розплоду – 14 (51,9 %).

Результати візуалізації продуктів ПЛР вибірково представлено на рис. 2.

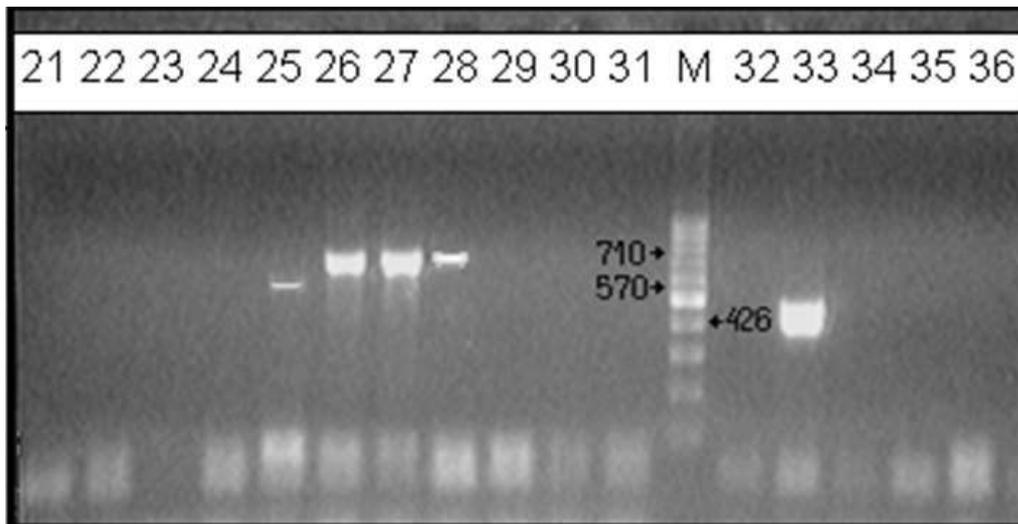


Рис. 2. Гель–електрофорез продуктів ПЛР ентомопатогенних вірусів. Негативні №№ 21, 22, 24. Позитивні: № 25 (CBPV, довжина амплікону 570 п.н.), №№ 26, 27, 28 (DWV, довжина амплікону 710 п.н.), № 33 (SBV), довжина амплікону 426 п.н.).

Із загального різноманіття нині відомих вірусів тільки більше десяти здатні викликати хвороби з специфічними симптомами. Серед них в Україні поширені вірус чорних маточників (Black Queen Cell Virus, BQCV), вірус мішечкуватого розплоду (Sacbrood Virus, SBV), вірус деформованого крила (Deformed Wing Virus, DWV) та вірус хронічного паралічу (Chronic Bee Paralysis Virus, CBPV). Крім того, потенційну загрозу для українських бджіл можуть становити вірус гострого паралічу бджіл (Acute Bee Paralysis Virus, ABPV) кашмір-вірус бджіл (Kashmir Bee Virus, KBV), ізраїльський вірус гострого паралічу (Israeli Acute Paralysis Virus, IAPV) тощо. Останні, хоча й досі не виявлялися на території нашої країни, наразі мають глобальне розповсюдження, діапазон якого розширюється за рахунок активної торгівлі медоносними бджолами та продуктами бджільництва.



За проведеними дослідженнями вірус гострого паралічу методом молекулярно-діагностичних вдалося виявити тільки в одному зразку, хоча характерні симптоми й спостерігали в більшій кількості сімей. Вони співпадають з аналогічними як і за хронічного паралічу. Відмінність полягає лише у швидкості загибелі особин після ураження. Воно за гострого паралічу блискавичне.

В цілому підтвердження ураження бджіл ентомопатогенними вірусами методом ПЛР реєстрували тільки у 34,9 % проб від загальної кількості зразків, відібраних із сімей, підозрілих у захворюванні на вірози.

Висновок: Варіанти діагностики вірусних інфекцій бджіл є досить обмеженими. Здебільшого оцінка рівнів вірусного навантаження на бджолині сім'ї, що не проявляють чітких симптомів ураження, вимагає молекулярно-генетичних підходів, таких як полімеразно-ланцюгова реакція (ПЛР). За даними літератури та результатами проведених досліджень, порівняно з епізоотологічним обстеженням, найбільш специфічним та чутливим тестом є ПЛР. Наразі ця послуга недоступна для широкого загалу. Відсутніми є також схеми спеціалізованого лікування вірусних інфекцій медоносних бджіл. Попри це бджолярам рекомендовано вживати заходів для мінімізації передачі вірусів, шляхом обмеження скупчення бджолосімей на пасіках, ізолювання уражених вуликів та гігієнічного поводження з бджоловодним реманентом, а також за рахунок зменшення впливу інших стресових чинників на бджолині сім'ї, таких як паразити, пестициди, харчові дефіцити тощо.

Для подальшого дослідження поширення вірусних хвороб на пасіках України слід продовжити роботу в напрямі визначення послідовностей нуклеотидів геному ентопатогенних вірусів, розширити спектр використовуваних праймерів більше ніж для чотирьох інфекцій, наведених у представленій публікації. Внаслідок чого молекулярно-генетичні дослідження сприятимуть оцінці поширеності вірусів у популяціях бджіл, у тому числі тих вірусів та їх різновидів, виявити, які раніше було неможливо. Отримані дані також забезпечать підстави щодо прогнозування розвитку ситуації у конкретному регіоні у зв'язку з наявністю того чи іншого вірусу або його комбінацій.

Бібліографічний список

1. FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Honey bee diseases and pests: a practical guide. Agricultural and Food Engineering Technical Report Rome. 2006. 4. 42. [Електронний ресурс] Режим доступу: <http://www.fao.org/icatalog/inter-e.htm> (дата звернення 27.03.2023 р.)
2. FAO. Good beekeeping practices: Practical manual on how to identify and control the main diseases of the honeybee (*Apis mellifera*). TECA –*Technologies and practices for small agricultural producers*. 2020. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://doi.org/10.4060/ca9182en> (дата звернення 20.02.2023).
3. Ball B. V. An introduction to viruses and techniques for their identification and characterisation СІНЕАМ - Options Mediterraneennes. 1992. P. 69–80.
4. Bailey L. Two More Small RNA Viruses from Honey Bees and Further Observations on Sacbrood and AcuteBee-Paralysis Viruses, *J. gen. ViroL.*, 1977, V. 37. P. 175–182.
5. Benjeddou M. Detection of acute bee paralysis virus and black queen cell virus from honeybees by reverse transcriptase PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* 2001, Vol. 67. 2384–2387.
6. Chen Y. P., Pettis J. S., Collins A., and Feldlaufer M. F. Prevalence and Transmission of Honeybee Viruses, *Applied and environmental microbiology*. 2006. Vol. 72. N 1. P. 606-611.



7. Evans J. D., Genetic Evidence for Coinfection of Honey Bees by Acute Bee Paralysis and Kashmir Bee Viruses. *Journal of Invertebrate Pathology* 2001. V. 78. P. 189–193.
8. Olivier V. Molecular characterisation and phylogenetic analysis of Chronic bee paralysis virus, a honey bee virus. *Virus Res.* 2008. Vol. 132(1-2) 59 – 68.
9. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals (mammals, birds and bees) / *World organization for animal health. OIE.* 2004. [Електронний ресурс] Режим доступу: https://opac.spc.int/cgi-bin/koaha/opac-detail.pl?biblionumber=52298&query_desc=Provider%3AOffice%20international%20des%20C3%A2erizooties%2C (дата звернення 10.04.2023)
10. Бакулов И. А. Руководство по общей эпизоотологии. М.: Колос, 1979. 424.
11. Маслій І. Г., Немкова С. М., Ступак Л. П., Десятникова О. В. Епізоотична ситуація щодо основних небезпечних хвороб бджіл в Україні, IV Lubelska konferencja pszczelarska aktualnie problemy nowoczesnego pszczelarstwa Pszczela Wola 8-10 lutego 2013 S. 113 – 118.
12. Маслій І. Г., Порівняльні моніторингові дослідження вірусів бджіл шляхом эпизоотологічного обстеження та біологічної проби. *Ветеринарна медицина: міжвід. темат. наук. зб. X.*, 2016. Вип. 102. С. 98–103.
13. Завгородній А. І., Влізло В. В., Лиманська О. Ю., Герілович А. П. Молекулярно-генетичні методи діагностики у ветеринарній медицині та біотехнології: навч. Посібник. Під заг ред. Б. Т. Стегній, А. П. Герілович. К.: СТ Друк, 2014. 285 с.
14. S. Kasprzak, Grazyna Topolska Structure, classification and methods of Identification of honey bee viruses *Medycyna Weterynaryjna*, 2007, 63(11):1427-1430
15. Kasprzak, S. Topolska, Grazyna Virus infections of the honey bee *Apis mellifera* associated with varroosis and nosemosis *Medycyna Weterynaryjna*, 2008. 64 С. 1095-1097
16. Ribière, M., Molecular diagnosis of chronic bee paralysis virus infection, *Apidologie.* 2002. V. 33. P. 339-351.
17. Tentcheva D. Prevalence and seasonal variations of six bee viruses in *Apis mellifera* L. and *Varroa destructor* mite populations in France, *Applied and Environmental Microbiology.* 2004. P. 7185–7191.
18. Chen Y. Detection of multiple viruses in queens of the honey bee *Apis mellifera* L. *Journal of Invertebrate Pathology.* 2005. № 90. P. 118–121.

References

1. FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Honey bee diseases and pests: a practical guide. Agricultural and Food Engineering Technical Report 4, Rome. (2006). 42 с. <http://www.fao.org/icatalog/inter-e.htm>
2. FAO. Good beekeeping practices: Practical manual on how to identify and control the main diseases of the honeybee (*Apis mellifera*). TECA – *Technologies and practices for small agricultural producers.* (2020). <https://doi.org/10.4060/ca9182en>
3. Ball, B., (1992). An introduction to viruses and techniques for their identification and characterisation *CIHEAM - Options Mediterraneennes.*, 69–80.
4. Bailey, L., (1977). Two More Small RNA Viruses from Honey Bees and Further Observations on Sacbrood and AcuteBee-Paralysis Viruses *J. gen. ViroL.*, 37. 175–182.



DIAGNOSTIC MEASURES REGARDING VIRAL DISEASES OF BEES IN THEIR MODERN DOMESTIC TECHNOLOGICAL SCHEME KEEPING AND BREEDING

Maslii I. G., Institute of Animal Science of NAAS

Only the most prosperous apiaries in veterinary and sanitary terms are able to ensure the proper functioning of the beekeeping industry. To do this, it is necessary to carry out timely and comprehensive diagnostic production and laboratory measures in order to identify the causative agents of bee diseases and prevent their spread. One of the modern high-precision methods is the polymerase chain reaction using specific primers. This method of analysis is quite widely used in many countries of the world for the diagnosis of viral diseases of bees.

The purpose of the research is a comparative assessment of the use of two methods: epizootological examination in the field and diagnosis of viruses using PCR with specific primers for entomopathogenic viruses. As part of the experiment, 162 samples of pathological material from 17 regions of Ukraine were examined. According to the results of a three-year epizootological examination, clinical examination of families and differential diagnosis, 146 samples of pathological material were selected for PCR research.

Out of 146 samples tested by PCR, only 51 were positive, which is 34.9%. This confirms the difficulty of establishing a diagnosis of viral diseases of bees based on clinical signs. Analyzing the results obtained over the years of research, it should be noted that the lowest number of positive cases of bees affected by viral agents according to PCR results was recorded in 2015 - 9 samples (17.6%) of cases, the largest - in 2016 - 27 (52.9%). According to the determination of the specific share of each of the studied viruses, it was established that the most common in 2014 were chronic paralysis (26.7 %) and sac-like brood (46.7 %), in 2015 – sac-like brood (66.7 %), in 2016 – chronic paralysis and saccular fetus. This indicates that effective and high-quality diagnostics of viral infections, apart from the viral disease of offspring, have not yet been sufficiently developed in Ukraine.

Keywords: viral diseases of bees, epizootological, clinical method of research, polymerase chain reaction.