

# Charakterystyka mikrobiomu *Varroa destructor*:

## Wpływ na zdrowie pszczoły miodnej

Anna Marzec – Grządziel<sup>1</sup>, Grzegorz Borsuk<sup>2</sup>

1 Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, Zakład Mikrobiologii  
2 Zakład Pszczelnictwa, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

[agrządziel@iung.pulawy.pl](mailto:agrządziel@iung.pulawy.pl)

Badania wykonano w ramach tematu statutowego 1.04 IUNG-PIB

„Charakterystyka endofitów bakteryjnych wyizolowanych z wybranych roślin miododajnych oraz określenie ich potencjału biotechnologicznego”



### Wprowadzenie

Mikrobiota pszczoły miodnej (*Apis mellifera*) odgrywa kluczową rolę w utrzymaniu zdrowia, odporności na patogeny i kondycji całej kolonii. Pszczoły są niezastąpionymi zapylaczami, wspierając rolnictwo i stabilność ekosystemów. Jednym z największych zagrożeń dla pszczół jest roztocz pasożytniczy *Varroa destructor*, który osłabia organizmy żywicieli przez pobieranie hemolimfy i tłuszczu oraz przenoszenie licznych patogenów. Ostatnie badania wskazują, że mikrobiom jelitowy wpływa na odporność, metabolizm i obronę pszczół przed chorobami. Lepsze poznanie interakcji mikrobiologicznych między *A. mellifera* a *V. destructor* może dostarczyć cennych informacji dla strategii ochrony kolonii. Nadal jednak brakuje wiedzy na temat różnic w mikrobiocie pszczół i ich pasożytów.

### Wyniki

Indeksy różnorodności alfa, obliczone na podstawie sekwencjonowania 16S rRNA, wykazały różnice między próbkami. Próbkę *Apis* charakteryzowały się wyższą różnorodnością bakteryjną.

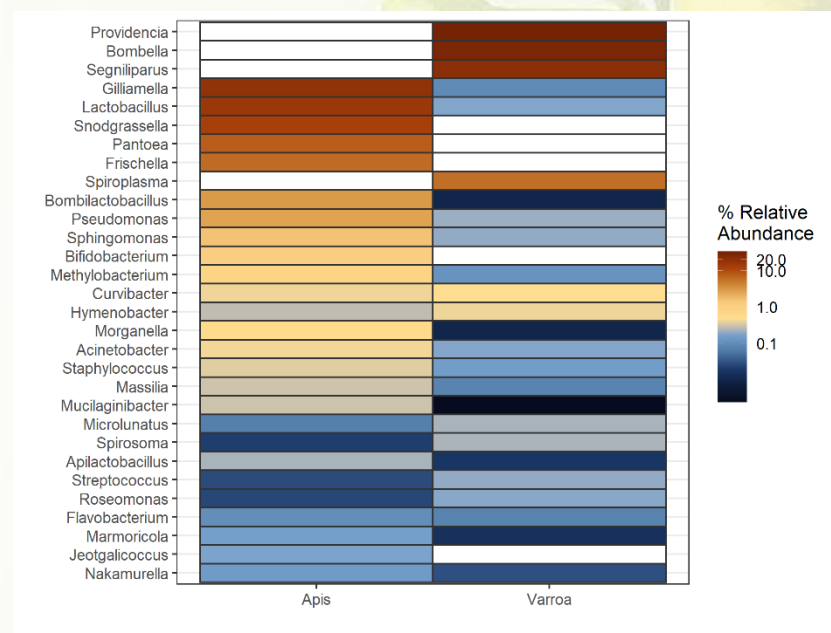
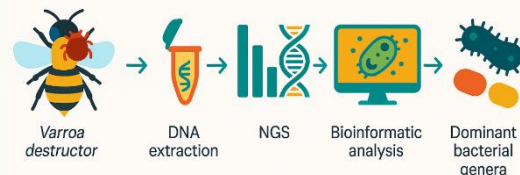
Zidentyfikowano łącznie 171 wariantów sekwencji ampikonowych (ASV), z czego 111 przypisano do poziomu rodzaju. W próbkach *Varroa* dominowały: *Providencia*, *Bombella* i *Segniliparus*, natomiast w próbkach *Apis*: *Gilliamella*, *Lactobacillus* i *Snodgrassella* (Ryc.1). Na poziomie rodzin najliczniejsze były: *Acetobacteraceae*, *Morganellaceae*, *Segniliparaceae* (*Varroa*) oraz *Orbaceae*, *Lactobacillaceae*, *Erwiniaceae* (*Apis*). Na poziomie typu dominowały: *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Tenericutes* (*Varroa*) oraz *Firmicutes* i *Actinobacteria* (*Apis*) (Ryc.2).

Analiza bioinformatyczna wykazała obecność 102 unikalnych ASV, z czego najwięcej w próbkach *Apis*. Wspólny mikrobiom obu grup obejmował 62 ASV (Ryc.3). Próbkę *Apis* charakteryzowały się większą liczbą unikalnych taksonów oraz wyższym średnim udziałem mikrobiomu rdzeniowego (0,842 vs. 0,0901 w *Varroa*), co wskazuje na niższą różnorodność i liczebność bakterii u *Varroa*, u których więcej było unikalnych taksonów z typu *Actinobacteria* i rodzaju *Actinomycetospora*. Siedem z trzynastu nieprzypisanych do poziomu rodzaju ASV unikalnych dla *Varroa* należało do *Proteobacteria* i *Firmicutes*. U *Apis* częściej występowały unikalne taksony z *Acidobacteria*, *Firmicutes* i *Acinetobacter*. Różnice w liczebności taksonów między grupami były wyraźne; próbki *Apis* wykazywały wyższe obfitości dla wielu taksonów. Na poziomie rodzaju różnice były istotne statystycznie ( $p = 4,46e-5$ ).

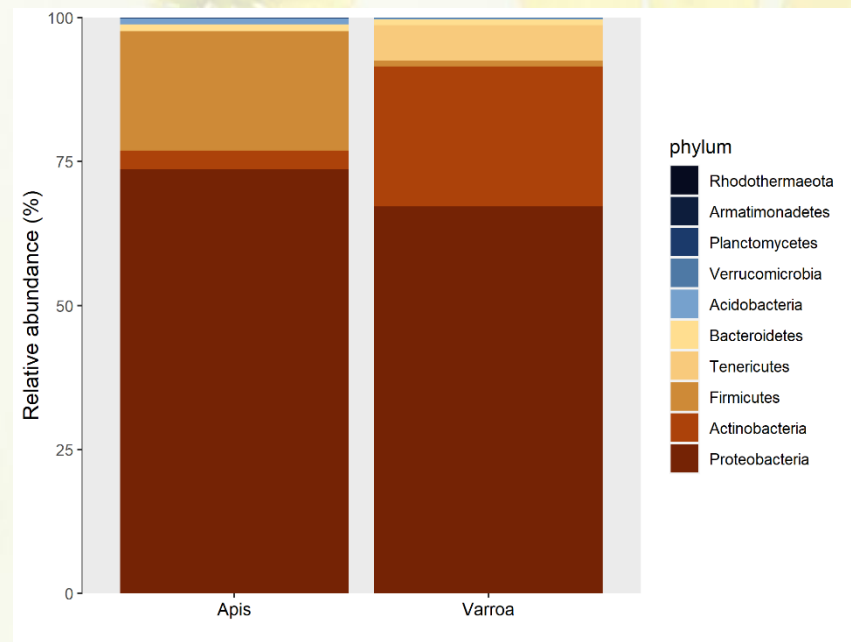
### Materiały i metody

DNA wyizolowano z 4 próbek *Varroa destructor* i 5 próbek *Apis mellifera* z wykorzystaniem zestawu Bead-Beat Micro AX Gravity. Stężenie i jakość DNA oceniano przy użyciu fluorometru Quantus™. Sekwencjonowanie regionu V3–V4 16S rRNA przeprowadzono na platformie Illumina NovaSeq 6000 (2×250 bp PE, v2 chemisty; Novogene, UK), po przygotowaniu bibliotek z primerami 341F i 785R oraz zestawem Q5 Hot Start (NEB, USA). Obróbkę danych wykonano w R (v.3.4.3) przy użyciu DADA2 (v.1.8). Sekwencje przycięto do 250 bp, usunięto pierwsze 20 bp, zastosowano filtry: maxN=0, maxEE=5, truncQ=2, usunięto chimery. Taksonomię przypisano na podstawie bazy RDP (Naïve Bayesian Classifier, minBoot=50). Sekwencje mitochondrialne i chloroplastowe odfiltrowano (phyloseq), a obfitości przeliczono na wartości procentowe. Wizualizacje wykonano w R (microeco, pheatmap, ggplot2). Surowe dane FASTQ zdeponowano w SRA (NCBI).

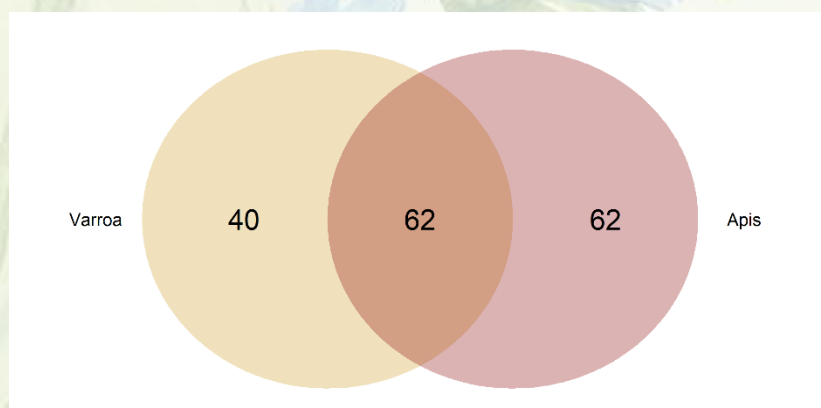
#### The Microbiome of *Varroa destructor*



Ryc.1 Wyniki analizy sekwencjonowania regionu V3-V4 16S rRNA, porównanie mikrobiomu na poziomie rodzaju



Ryc.2 Wyniki analizy sekwencjonowania regionu V3-V4 16S rRNA, porównanie mikrobiomu na poziomie typu



Ryc.3 Analiza Venn pokazująca liczbę wspólnych oraz unikatowych taksonów w porównywanych próbkach