

Wewnętrzne życie pszczół. Osobnicze oraz systemowe konsekwencje wynikające ze zmian w trójstronnym układzie wirus-mikrobiom-murarka ogrodowa (*Osmia bicornis*)

Zapylenie jest podstawową usługą ekosystemową, której wykonawcami na naszej szerokości geograficznej są najczęściej owady. Najlepiej przystosowane do tego zadania są pszczoły, których w Europie występuje ponad 2000 gatunków, z czego w Polsce ponad 480 gatunków. **Zdecydowana większość gatunków pszczół prowadzi samotny tryb życia.** Obecnie są one narażone na wiele zagrożeń skutkującymi stratami zarówno w ich liczebności, jak i różnorodności. **Jednym z głównych niebezpieczeństw dla pszczół jest rozprzestrzenianie się chorób i pasożytów,** a w szczególności patogenów, które mogą współwystępować u różnych gatunków. Komercyjnie hodowana pszczoła miodna (*Apis mellifera*) przyczynia się do wzrostu przekazywania chorób pozostałym gatunkom pszczół, ze względu na jej masowe występowanie w środowisku. Do transmisji patogenów pomiędzy osobnikami różnych gatunków dochodzi w czasie **zbierania pokarmu z kwiatów, gdzie zainfekowane osobniki pozostawiają odchody zawierające wirusy zdolne do ponownej infekcji (wirulentne).** Samice pszczół samotnych wraz z pyłkiem kwiatowym przenoszą wirusy do gniazda, w którym mają z nimi kontakt jaja, a następnie larwy kolejnego pokolenia. Z pokarmu kwiatowego korzystają także samce, których możliwa rola w transmisji wirusów nie jest jeszcze opisana. **Chorobotwórcze wirusy pszczół miodnej są wykrywane u innych samotnych pszczół, ale dotychczas nie zbadano czy wirusy mogą się namnażać w innym gospodarzu ani jakie są skutki takich zakażeń.** Brak także wiedzy, czy pszczoły samotne mogą przyczyniać się do rozprzestrzeniania wirulentnych wirusów w środowisku poprzez swoje odchody. Jednak owady nie pozostają osamotnione w walce z wirusami. Na drodze równoczesnej ewolucji z zamieszkującymi je mikroorganizmami wykształciły współpracę z niektórymi bakteriami zamieszkującymi ich układy pokarmowe, które mogą ograniczać namnażanie się wirusów pełniąc w ten sposób funkcję ochronną dla swojego gospodarza. Taka zależność została potwierdzona u pszczoły miodnej, natomiast u pszczół samotnych nadal pozostaje niewiadomą.

Celami projektu są [1] opisanie, **jak zarażenie wirusowe wpływa na długość życia samców oraz samic pszczół samotnych** zarówno w warunkach optymalnych jak i stresowych, [2] zbadanie czy **wirusy znajdują się w odchodach pszczół samotnych,** a jeśli tak to czy są wirulentne oraz [3] określenie wpływu **zarażenia wirusami na długość życia oraz rozwój larw pszczół samotnych z naturalnym oraz zaburzoną składem mikrobiomu.** Poza tym opracujemy nową procedurę oznaczania liczby kopii wirusa w pszczole z użyciem sekwencjonowania amplikonowego. Przedstawicielem pszczół samotnych i organizmem modelowym w tym projekcie jest **murarka ogrodowa (*Osmia bicornis*),** u której wykazano obecność wirusów chorobotwórczych dla pszczoły miodnej. Sprawdzimy skutki zakażeń **wirusami RNA** występującymi powszechnie prawie na całym świecie w rodzinach pszczoły miodnej: wirusem czarnych mateczników (**BQCV**) i wirusem zdeformowanych skrzydeł typu B (**DWV B**).

Najpierw opracujemy nową metodykę sekwencjonowania amplikonowego, koniecznego do dalszego kwantyfikowania wirusów RNA w tym projekcie. Pierwszy eksperyment polega na **zarażeniu dorosłych osobników murarki ogrodowej wirusami w warunkach laboratoryjnych.** Wirus będzie podany pszczolom drogą pokarmową, aby odtworzyć warunki przenoszenia się wirusów w środowisku, a następnie będą trzymane w klatkach. Będziemy analizować liczbę kopii wirusa w kolejnych dniach po zarażeniu oraz przeżywalność dorosłych owadów w zależności od płci. Stresorem w tym eksperymencie będzie ograniczony dostęp pszczół do pokarmu. W drugim doświadczeniu wykorzystamy **odchody pobrane od pszczół z pierwszego eksperymentu,** aby określić liczbę kopii wirusa, a następnie **zainfekować nimi poczwarki pierwotnego gospodarza, czyli pszczoły miodnej.** Odnotujemy ich śmiertelność oraz liczbę kopii wirusa po trzech dniach od podania. W trzecim eksperymencie **wczesne stadia larwalne murarki ogrodowej zakazimy dwoma wirusami, aby porównać ich śmiertelność, zmiany w rozwoju** (czas pomiędzy wybranymi stadiami larwalnymi), a także zmianę liczby kopii wirusa w czasie rozwoju pszczoły. Co więcej u części osobników **zaburzymy skład mikrobiomu** poprzez podanie im wysterylizowanego pyłku albo antybiotyku. **To pozwoli nam na sprawdzenie, czy liczba konkretnych symbiotycznych bakterii wpływa na liczbę kopii wirusa.**

Największym spodziewanym efektem tego projektu jest poznanie przebiegu infekcji wirusowej, ustalenie możliwości namnażania się wirusów w innych gospodarzach oraz opisanie jej wpływu na życie pszczół samotnych. Dotychczasowy brak informacji w tym zakresie nie pozwala na wyciągnięcie wniosków o skutkach transmisji tego typu patogenów na dzikie pszczoły. Zwiększająca się popularność pszczoły miodnej niesie ze sobą ryzyko częstszego kontaktu z innymi gatunkami pszczół, a tym samym większą szansę na przekazania wirusów. Dodatkowo zubożenie roślinnej bazy pokarmowej dzikich pszczół może prowadzić do ich niedożywienia oraz zmiany składu mikrobiomu, co może skutkować większą podatnością na infekcje. **Wiedza na temat przebiegu infekcji u pszczół dzikich jest konieczna, by przewidywać ich skutki i skuteczniej chronić owady zapylające.** Wynikiem projektu będą nowe i istotne informacje będące przedmiotem zainteresowań w dziedzinach takich jak ekologia czy mikrobiologia.