

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
ՄՈԼԵԿՈՒԼԱՅԻՆ ԿԵՆՍԱԲԱՆՈՒԹՅԱՆ ԻՆՍՏԻՏՈՒՏ

ՊՈՂՈՍՅԱՆ ԱՐՓԻՆԵ ԱՐՄԵՆԻ

ՔԱՂՅՐԱՀԱՄ ԶՐԵՐԻ ԳԱՍՏՐՈՊՈՂԻՆԵՐԸ ՈՐՊԵՍ ԽՈԶԵՐԻ ԱՖՐԻԿՅԱՆ
ԺԱՆՏԱԽՏԻ ՎԻՐՈՒՍԻ ՀՆԱՐԱՎՈՐ ԷԿՈԼՈԳԻԱԿԱՆ ԽՈՐՇ

Գ.00.03. – «Մոլեկուլային և բջջային կենսաբանություն» մասնագիտությամբ
կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի գիտական աստիճանի
հայցման ատենախոսության

ՍԵՂՄԱԳԻՐ

ԵՐԵՎԱՆ – 2025

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF ARMENIA
INSTITUTE OF MOLECULAR BIOLOGY

ARPINE ARMEN POGHOSYAN

POTENTIAL ROLE OF FRESHWATER GASTROPODS AS AN ECOLOGICAL NICHE FOR
AFRICAN SWINE FEVER VIRUS

SYNOPSIS

of Dissertation Submitted for the Degree
of Candidate of Biological Sciences (Ph.D.) in the Field of
03.00.03. – “Molecular and Cellular Biology”

YEREVAN – 2025

Ատենախոսության թեման հաստատվել է ՀՀ ԳԱԱ մոլեկուլային կենսաբանության
ինստիտուտի գիտական խորհրդում:

Գիտական ղեկավար՝

Կ.գ.դ., պրոֆ. Կարալյան Զավեն
Ալեքսանդրի

Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝

Կ.գ.դ. Փանոսյան Հովիկ Հարությունի
Կ.գ.թ. Զաքարյան Հովակիմ Սարգսի

Առաջատար կազմակերպություն՝

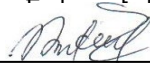
Հայաստանի ազգային ագրարային
համալսարան

Ատենախոսության պաշտպանությունը տեղի կունենա 2025 թ. հուլիսի 11-ին, ժամը
14:00-ին, ՀՀ ԳԱԱ մոլեկուլային կենսաբանության ինստիտուտում, 042
մասնագիտական խորհրդի նիստում (ՀՀ 0014, ք. Երևան, Հասրաթյան 7):

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ ՀՀ ԳԱԱ մոլեկուլային կենսաբանության
ինստիտուտի գրադարանում և <https://imb.am/> կայքում:

Ատենախոսության սեղմագիրն առաքվել է 2025 թ. հունիսի 9-ին:

042 մասնագիտական խորհրդի գիտական քարտուղար,
կենս. գիտ. թեկնածու



Ռ.Վ. Զախարյան

Dissertation topic approved at the Scientific Council of the Institute of Molecular Biology NAS
RA.

Scientific supervisor:

D.Sc., Prof. Zaven Alexandr Karalyan

Official opponents:

D.Sc. Hovik Harutyun Panosyan
Ph.D. Hovakim Sargis Zakaryan

Leading organization:

Armenian National Agrarian
University

The defense of the dissertation will be held on 11 July 2025, at 14:00 at the session of the
specialized council 042 acting in the Institute of Molecular Biology NAS RA (Hasratyan 7, 0014,
Yerevan, RA).

The dissertation is available at the library of the Institute of Molecular Biology NAS RA and at
the website <https://imb.am/>.

Synopsis was sent out on 9 June 2025.

Scientific secretary of the specialized council 042
PhD



R.V. Zakharyan

ԱՇԽԱՏԱՆՔԻ ԸՆԴՀԱՆՈՒՐ ԲՆՈՒԹԱԳԻՐԸ

Թեմայի արդիականությունը: Խոզերի աֆրիկյան ժանտախտը (ԽԱԺ) վիրուսային հեմոռագիկ հիվանդություն է, որն ուղեկցվում է բարձր մահացությամբ (մոտ 100%) ինչպես ընտանի խոզերի (*Sus scrofa domestica*), այնպես եվրասիական վայրի խոզերի մոտ: Հիվանդության հարուցիչը Խոզերի աֆրիկյան ժանտախտի վիրուսն է (ԽԱԺՎ) (*Asfarviridae* ընտանիք): Այն խոշոր, նուկլեոցիտոպլազմատիկ, երկշղթա ԴՆԹ վիրուս է, որի համար բնական շտեմարան են հանդիսանում Աֆրիկայի բնիկ վայրի խոզերը (*Phacochoerus africanus* և *Potamochoerus porcus*), ինչպես նաև *Ornithodoros moubata* տեսակի տզերը, որոնց մոտ վարակն ընթանում է առանց տեսանելի ախտանշանների: ԽԱԺՎ-ն առաջին անգամ հայտնաբերվել է 1921 թվականին Քենիայում և մինչև 1950-ական թվականները էնդեմիկ է եղել Արևադարձային Աֆրիկայի մեծ մասում, իսկ հետագայում տարածվել է Եվրասիական տարածաշրջանում: 2007 թվականին հիվանդության բռնկումներ են արձանագրվել նաև Հայաստանում: ԽԱԺՎ-ի փոխանցման հիմնական ուղիներն են՝ վարակված կենդանիների կամ նրանց կենսահեղուկների ու արտազատուկների հետ ուղղակի շփումը, ինչպես նաև անուղղակի փոխանցումը վարակված կերի, խոզի մսի, տրանսպորտային միջոցների և այլ առարկաների միջոցով: ԽԱԺՎ-ը բավականին դիմացկուն է շրջակա միջավայրի տարբեր գործոնների նկատմամբ, ինչն ավելի է դժվարացնում դրա վերահսկումը (Alotaibi et al., 2024):

Բացի կենդանիների առողջության վրա թողած ազդեցությունից, խոզերի աֆրիկյան ժանտախտը կարող է լուրջ հետևանքներ ունենալ խոզաբուծության և խոզի մսամթերքի համաշխարհային առևտրի վրա՝ սպառնալիք դառնալով համաշխարհային պարենային անվտանգության համար: Կենդանիների առողջության համաշխարհային կազմակերպության (WOAH) տվյալներով՝ 2022 թվականի հունվարից մինչև 2024 թվականի օգոստոսը ԽԱԺՎ-ով վարակվել են ավելի քան 704,000 խոզեր և 21,600 վայրի խոզեր 61 երկրներում, ինչի հետևանքով ոչնչացվել է շուրջ 1.7 միլիոն կենդանի (ASF Situation Report 57, WOAH): Չնայած տասնամյակներ տևած ինտենսիվ հետազոտություններին՝ սկսած 1960-ական թվականներից, մինչ օրս որևէ պատվաստանյութ չի հաստատվել ԽԱԺՎ-ի դեմ օգտագործման համար: Բազմաթիվ պատվաստանյութերի թեկնածուներ՝ ներառյալ կենդանի թուլացված, ենթամիավորային, ԴՆԹ-հիմնված և վիրուս-վեկտորային պատվաստանյութեր, չեն ապահովել հիվանդության դեմ լիարժեք իմունային պաշտպանություն (Urbano et al., 2022): Հաշվի առնելով նաև արդյունավետ բուժման միջոցների բացակայությունը, ԽԱԺՎ-ի կանխարգելումն ու վերահսկումը հրատապ նշանակություն ունեն: Այս համատեքստում առանձնակի կարևորություն է ստանում Աֆրիկյան տարածաշրջանից դուրս վիրուսի երկարաժամկետ պահպանմանը նպաստող էկոլոգիական գործոնների բացահայտումը, ինչը կարող է էապես նպաստել ոչ միայն վիրուսի էկոլոգիայի պարզաբանմանը, այլև կանխարգելիչ միջոցառումների հստակեցմանն ու արդյունավետության բարձրացմանը:

Մինչ օրս Եվրասիայի տարածքում չի հայտնաբերվել որևէ օրգանիզմ, որը կհանդիսանար ԽԱԺՎ-ի էկոլոգիական շտեմարան կամ փոխանցող վեկտոր՝ բացատրելու համար վիրուսի կայուն պահպանումը տվյալ տարածաշրջանում: Թեև որոշ ուսումնասիրություններ ենթադրում են, որ ԽԱԺՎ-ը կարող է գոյատևել տարբեր հոդվածոտանիների օրգանիզմում, սակայն վիրուսի պահպանման մեխանիզմները դեռևս ուսումնասիրման փուլում են (Olesen et al., 2018; Herm et al., 2019; Yoon et al., 2021; Vasić et al., 2024):

Այս հետազոտության շրջանակում քաղցրահամ ջրերի խխունջների ընտրությունը՝ որպես ԽԱԺՎ-ի էկոլոգիական խորշ, պայմանավորված է նախկինում ստացված տվյալներով: Մասնավորապես՝ 2020 թվականին Matsuyama-ի թիմը հայտնաբերել է նոր վիրուս՝ Abalone asfa-like վիրուսը (AbALV), որը վարակում է *Haliotis diversicolor* ծովային գաստրոպոդներին և առաջացնում ամիոտորֆիա (Matsuyama et al., 2020): Հետագա հետազոտությունների արդյունքում պարզվել է, որ AbALV-ի և ԽԱԺՎ-ի գենոմների միջև միջին ամինաթթվային նույնականության զույգային հարաբերակցությունը 33.97% է, և որ AbALV-ը կարող է լինել *Asfarviridae* ընտանիքի երկրորդ ներկայացուցիչը (Matsuyama et al., 2023): 2022 թվականին մեր լաբորատորիայում ցույց է տրվել ԽԱԺՎ-ի երկարատև (60-75 օր) պահպանման ունակությունը *Xeropicta derbentina* ցամաքային խխունջներում (Hakobyan et al., 2022): Բացի այդ, Hannat-ի և Zhao-ի լաբորատորիաների կողմից 2023 թվականին կատարված ԽԱԺՎ հոմոլոգ գենների ֆիլոգենետիկական վերլուծության արդյունքում հայտնաբերվել է վիրուսային հաջորդականություններ *Elysia marginata* ծովային գաստրոպոդի գենոմում: Այս արդյունքները վկայում են գենների հորիզոնական փոխանցման մասին, որը տիրոջ և վիրուսի միջև փոխազդեցության տարածված մեխանիզմ է և կարող է դեր խաղալ ԽԱԺՎ-ի էվոլյուցիայի և տարածման մեջ:

Հետազոտության նպատակն ու խնդիրները: Այս աշխատանքի նպատակն է եղել բացահայտել քաղցրահամ ջրերի գաստրոպոդների (տիպ *Mollusca*) ինը տեսակների դերը որպես հնարավոր էկոլոգիական խորշ Խոզերի աֆրիկյան ժանտախտի վիրուսի (Armenia 08 շտամ) էկոլոգիայում:

Նպատակի իրականացման համար առաջադրվել են հետևյալ խնդիրները.

1. Որոշել ԽԱԺՎ-ի պահպանման ժամկետները քաղցրահամ ջրերի 9 տեսակի խխունջների (*Melanoides tuberculata*, *Physa fontinalis*, *Tarebia granifera*, *Planorbis corneus*, *Asolene spixii*, *Pomacea bridgesii*, *Anentome helena*, *Brotia herculea white*, *Faunus ater*) օրգանիզմներում և դրանց արտաթորանքում՝ ուշադրություն դարձնելով ինչպես վարակիչ մասնիկների, այնպես էլ վիրուսային գենոմի պատճենների հայտնաբերմանը:
2. Ուսումնասիրել ԽԱԺՎ-ի գենների տրանսկրիպցիոն ակտիվությունը գաստրոպոդների բոլոր հետազոտված տեսակներում՝ պարզելու վիրուսային գենների ակտիվությունը պահպանելու նրանց հնարավորությունները:
3. Գնահատել ջրային միջավայրում ԽԱԺՎ-ի վարակելիությունը խխունջների առկայության պայմաններում:

Գիտական նորույթը: Առաջին անգամ ուսումնասիրվել է քաղցրահամ ջրերի գաստրոպոդների լայն տեսականու հնարավոր դերը Խոզերի աֆրիկյան ժանտախտի վիրուսի էկոլոգիայում: Ուսումնասիրության արդյունքները ցույց են տալիս, որ որոշ գաստրոպոդների օրգանիզմներում ԽԱԺՎ-ի վարակիչ մասնիկները կարող են պահպանվել մինչև 10 շաբաթ: Բացի այդ, մի շարք տեսակների՝ ներառյալ *Melanoides tuberculata*, *Tarebia granifera*, *Pomacea bridgesii*, *Physa fontinalis* և *Planorbarius corneus*, մոտ արձանագրվել է վիրուսային գեների տրանսկրիպցիոն ակտիվություն, ինչը վկայում է այդ օրգանիզմներում վիրուսի կենսաբանական ակտիվության պահպանման կարողության մասին: Հետազոտությունը նաև բացահայտել է, որ որոշ վարակված գաստրոպոդներ ունակ են ԽԱԺՎ-ն արտազատել ջրային միջավայր, ինչը լուրջ մտահոգություններ է առաջացնում քաղցրահամ ջրերի էկոհամակարգերում վիրուսի փոխանցման դինամիկայի և տարածման հնարավոր ուղիների վերաբերյալ:

Գիտակիրառական նշանակությունը: Աշխատանքը զգալի ներդրում է Խոզերի աֆրիկյան ժանտախտի վիրուսի (ԽԱԺՎ) էկոլոգիայի վերաբերյալ գիտելիքների ընդլայնման գործում: Այն հնարավորություն է տալիս առավել խորությամբ հասկանալու վիրուսի պահպանման և տարածման հնարավոր էկոլոգիական ուղիները՝ դրանով իսկ նպաստելով հիվանդության կանխարգելման և վերահսկման ռազմավարությունների կատարելագործմանը: Արդյունքները կարող են կիրառական արժեք ունենալ ինչպես կենդանիների առողջության պահպանման, այնպես էլ կենսաանվտանգության և սննդային անվտանգության ապահովման համատեքստում:

Ատենախոսության փորձաքննությունը: Աշխատանքի արդյունքները ներկայացվել և զեկուցվել են 12-րդ Հարավարևելյան Եվրոպական Իմունաբանության դպրոցում (SEEIS2023, Խորվաթիա), ինչպես նաև ՀՀ ԳԱԱ մոլեկուլային կենսաբանության ինստիտուտի գիտական խորհրդի նիստերում 2023-2025 թվականներին:

Հրատարակված գիտական աշխատանքները: Ատենախոսական աշխատանքի թեմայով հրատարակվել է 6 գիտական հոդված:

Ատենախոսության ծավալը և կառուցվածքը: Աշխատանքը շարադրված է 104 էջի վրա, ներառում է 4 աղյուսակ, 21 նկար: Ատենախոսությունը բաղկացած է հետևյալ բաժիններից՝ «Ներածություն», «Գրական ակնարկ», «Նյութեր և մեթոդներ», «Արդյունքներ և քննարկում», «Ամփոփում», «Եզրակացություններ» և «Գրականության ցանկ»: Գրականության ցանկը ներառում է անգլերեն լեզվով 170 աղբյուր:

ՆՅՈՒԹԵՐ ԵՎ ՄԵԹՈԴՆԵՐ

Քաղցրահամ խխունջներ: Գաստրոպոդների տեսակներն ընտրվել են՝ հիմնվելով Հայաստանում դրանց առկայության վրա, և ձեռք են բերվել կենդանաբանական խանութից: Ընտրված 9 գաստրոպոդների տեսակներից յուրաքանչյուրը տեղավորվել է

առանձին ակվարիումում: Խխունջները պահվել են 12-ժամյա լուսավորության և 12-ժամյա մթության պայմաններում՝ բնական ցերեկային և գիշերային ցիկլերի մոդելավորմամբ: Ակվարիումները տեղակայվել են $23 \pm 2^\circ\text{C}$ ջերմաստիճանով կարգավորվող սենյակում՝ ապահովելու գաստրոպոդների ֆիզիոլոգիապես օպտիմալ միջավայրը, որը միևնույն ժամանակ համարվում է ոչ լիովին բարենպաստ վիրուսի վերարտադրման համար: Փորձի ընթացքում գաստրոպոդների արտաթորանքը (մոտավորապես 0.1 գ) հավաքվել է շաբաթական, ցենտրիֆուգվել է 2000 պտ/րոպե արագությամբ, և ստացված նստվածքը պահվել է -30°C ջերմաստիճանում հետագա փորձարկումների համար: Շաբաթական նմուշառումը ներառել է նաև յուրաքանչյուր ակվարիումից 10 մլ ջրի հավաքում՝ հետագա փորձարկման նպատակով:

Վիրուս: Բոլոր փորձերում կիրառվել է Խոզերի աֆրիկյան ժանտախտի վիրուսի Armenia 08 շտամը: Վիրուսն առաջին անգամ մեկուսացվել է 2007 թվականին՝ ԽԱԺՎ-ով վարակված խոզի փայծաղից: Վարակման համար օգտագործված վիրուսի չափաբաժինը եղել է 3 lg HADU₅₀/մլ:

Վիրուսի ինֆեկցիոն մասնիկների որոշում: Հետազոտվող բոլոր նմուշներում ԽԱԺՎ-ի ինֆեկցիոն մասնիկների առկայությունը գնահատվել է հեմադսորբցիոն մեթոդով, արդյունքներն արտահայտվել են որպես $\log_{10}$ HAD₅₀/մլ (Enjuanes, 1976):

Խոզերի ալվեոյար մակրոֆագերի կուլտուրա: Կուլտուրայի ստացման համար երեք ամսական խոզերը ենթարկվել են էլթանագիայի, որից հետո հեռացվել են նրանց թոքերը՝ ալվեոյար մակրոֆագերի անջատման նպատակով: Ստացված բջջային կուլտուրաներն օգտագործվել են ԽԱԺՎ-ի ինֆեկցիոն ակտիվության հաստատման նպատակով: Մակրոֆագերի վարակումը կատարվել է ԽԱԺՎ-ով վարակված գաստրոպոդների կղանքից ստացված նմուշներով՝ նախապես պատրաստված 1×10^{-1} HADU₅₀/մլ լոգարիթմական նոսրացումներով:

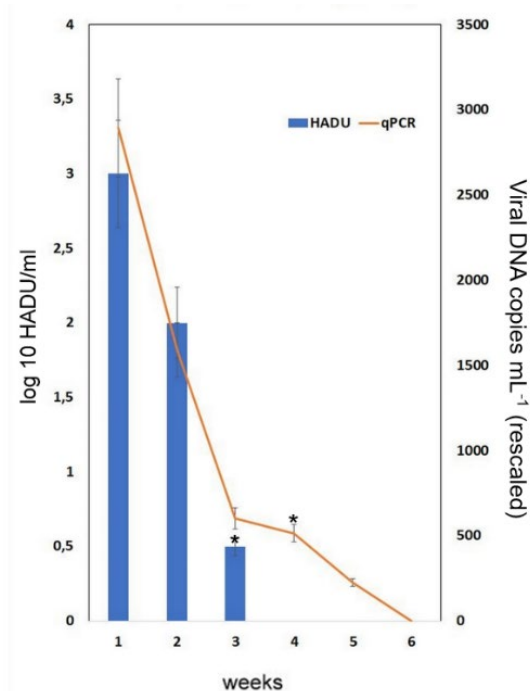
Վիրուսային գենոմի պատճենների որոշում: Ուսումնասիրված նմուշներից ԽԱԺՎ-ի նուկլեինաթթվի անջատումն իրականացվել է HiGene™ Viral RNA/DNA Prep (BIOFACT) կոմերցիոն հավաքածուի միջոցով՝ արտադրողի ուղեցույցին համապատասխան: Ստացված ՌՆԹ/ԴՆԹ նմուշները ենթարկվել են հակադարձ տրանսկրիպցիայի՝ կիրառելով FIREScript® RT cDNA Synthesis Kit (Solis BioDyne) հավաքածուն: Նմուշներում ԽԱԺՎ-ի գենոմի պատճենների քանակական որոշման համար կիրառվել է Իժ-քՊՇՌ (Bio-Rad CFX 96 Real-Time PCR system device): Գենոմային պատճենների քանակը հաշվարկվել է ստանդարտ կորի հիման վրա՝ վիրուսի հեմադսորբցիոն տիտրերը (վարակիչ մասնիկների քանակ) համեմատելով ստացված Cq արժեքների հետ: ԽԱԺՎ-ի վաղ (6 գեն), ամբիվալենտ (6 գեն) և ուշ (7 գեն) արտահայտվող գեների տրանսկրիպցիոն պրոֆիլների համեմատությունը խոզերի ալվեոյար մակրոֆագերի և գաստրոպոդների հյուսվածքներում նույնպես իրականացվել է Իժ-քՊՇՌ մեթոդաբանությամբ:

Վիճակագրական վերլուծություն: Բոլոր *in vitro* փորձարկումներն իրականացվել են երեք անգամ: Վիրուսի ազդեցությամբ պայմանավորված փոփոխությունների հավաստիությունը պարամետրիկ ցուցանիշների համար գնահատվել է երկկողմանի Ստյուդենտի *t*-թեստի կիրառմամբ՝ օգտագործելով SPSS 17.0 վիճակագրական ծրագրային փաթեթը (SPSS Inc., Chicago, IL, USA):

ԱՐԴՅՈՒՆՔՆԵՐ ԵՎ ՔՆՆԱՐԿՈՒՄ

ԽԱԺՎ գենոմի և վարակիչ մասնիկների հայտնաբերումը ջրում, գաստրոպոդների կղանքում և մարմիններում

Ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ քաղցրահամ ջրերի խխունջներից գերծ ջրային միջավայրում 22-24°C ջերմաստիճանի պայմաններում ԽԱԺՎ-ի վարակիչ մասնիկները պահպանվում են մինչև 3 շաբաթ: Մինչդեռ վիրուսի գենոմի պատճենները պահպանվում են գրեթե կրկնակի երկար՝ մինչև 5 շաբաթ (նկ. 1):

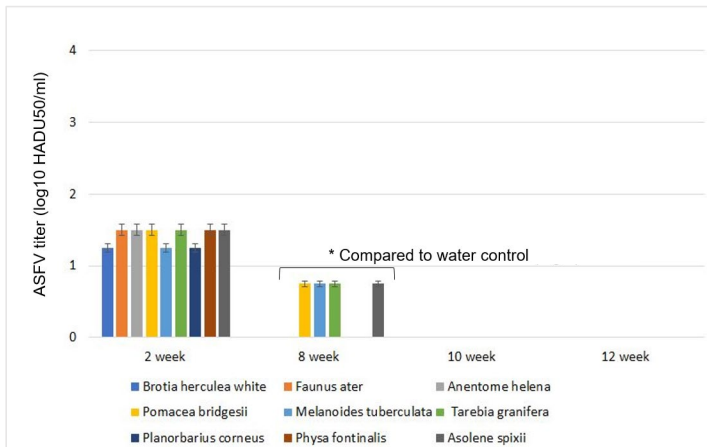


Նկար 1. ԽԱԺՎ գենոմի և վարակիչ մասնիկների քանակը քաղցրահամ խխունջներից գերծ ջրային միջավայրում (22-24°C):

Այս տվյալները ծառայել են որպես ստուգիչ հետազա փորձարարական արդյունքների վերլուծության համար: Հետագա փորձերը ցույց են տվել, որ դեպքերի մեծ մասում գաստրոպոդների առկայությունը զգալիորեն մեծացնում է վիրուսի գոյատևման ժամանակը ջրային միջավայրում:

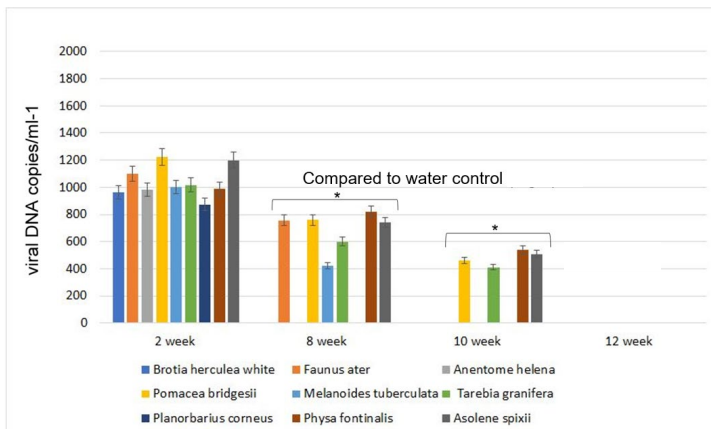
Մասնավորապես, երբ առկա էին *Melanoides tuberculata*, *Pomacea bridgesii*, *Tarebia granifera* և *Asolene spixii* տեսակի

խխունջները, ԽԱԺՎ վարակիչ մասնիկները հայտնաբերվել են ջրում մինչև փորձի 8-րդ շաբաթը (նկ. 2), ինչը 5 շաբաթով ավելի երկար է ստուգիչ խմբի համեմատ:



Նկար 2. ԽԱԺՎ վարակիչ մասնիկների քանակը ջրում՝ քաղցրահամ ջրերի տարբեր խխունջների առկայությամբ (HADU):

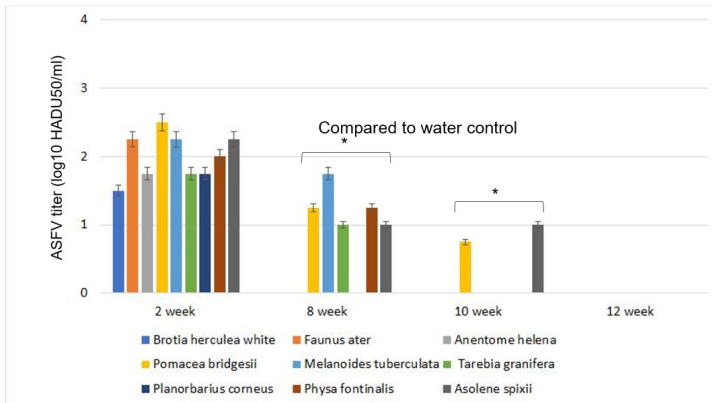
Բացի այդ, ԽԱԺՎ գենոմի պատճեններ են հայտնաբերվել *Pomacea bridgesii*, *Tarebia granifera*, *Physa fontinalis* և *Asolene spixii* խխունջներ պարունակող ջրում մինչև փորձի 10-րդ շաբաթը, որը կրկնակի անգամ գերազանցում է ստուգիչ խմբում գրանցված տվյալները (նկ. 3):



Նկար 3. ԽԱԺՎ ԴՆԹ գենոմի պատճենների քանակը ջրում՝ քաղցրահամ ջրերի տարբեր խխունջների առկայությամբ (քիժ-ՊՇՌ):

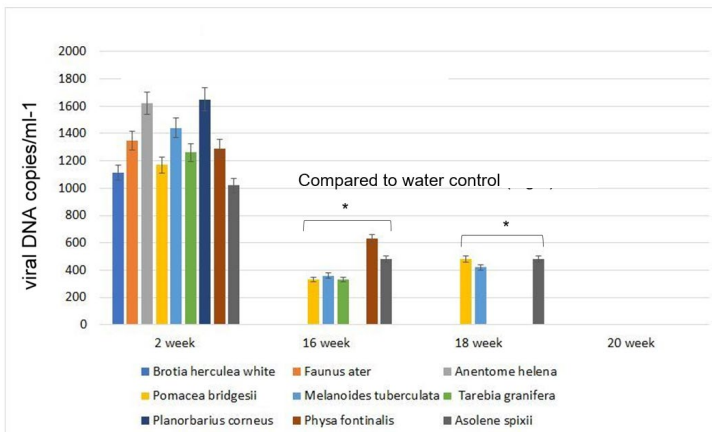
Քաղցրահամ ջրերի խխունջների արտաթորանքում ԽԱԺՎ-ի պահպանման տևողությունը զգալիորեն բարձր էր՝ համեմատած ջրային միջավայրի հետ (նկ. 4): Վիրուսի վարակիչ մասնիկներ հայտնաբերվել են *Pomacea bridgesii* և *Asolene spixii* տեսակների խխունջների կղանքում մինչև փորձի 10-րդ շաբաթը, մինչդեռ *Tarebia*

granifera, *Melanoides tuberculata* և *Physa fontinalis* տեսակների դեպքում՝ մինչև 8-րդ շաբաթը:



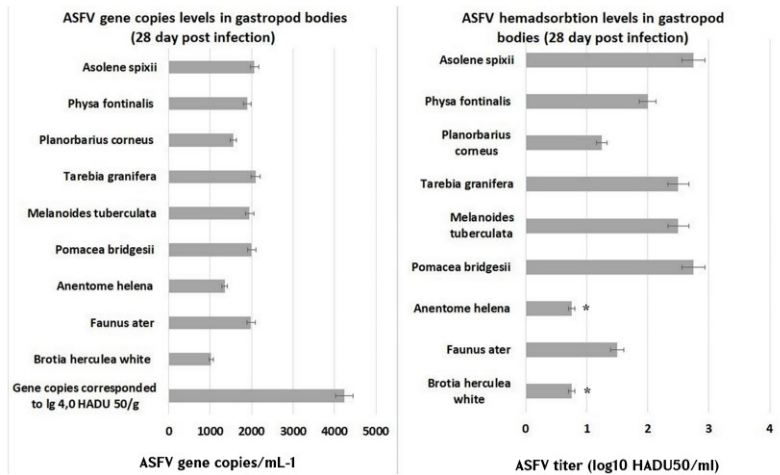
Նկար 4. ԽԱԺՎ վարակիչ մասնիկների քանակը տարբեր գաստրոպոդների կղանքում (HADU):

Վիրուսի գենոմի պատճենները զգալիորեն ավելի երկար՝ մինչև 18 շաբաթվա ընթացքում, պահպանվել են *Melanoides tuberculata*, *Pomacea bridgesii* և *Asolene spixii* խխունջների կղանքում (նկ. 5):



Նկար 5. ԽԱԺՎ ԴՆԹ գենոմի պատճենների քանակը տարբեր գաստրոպոդների արտաթորանքում (քիժ-ՊՇՌ):

Փորձի մեկնարկից 4 շաբաթ անց, երբ ջրային ստուգիչ միջավայրում այլևս չէին հայտնաբերվում ԽԱԺՎ-ի վարակիչ մասնիկներ, իրականացվել է ԽԱԺՎ-ի քանակի չափում ուսումնասիրվող խխունջների մարմիններում (նկ. 6): Արդյունքները ցույց են տվել, որ վիրուսը պահպանվում է բոլոր գաստրոպոդների մարմիններում, բացառությամբ *Brotia herculea white* և *Anentome helena* տեսակների:



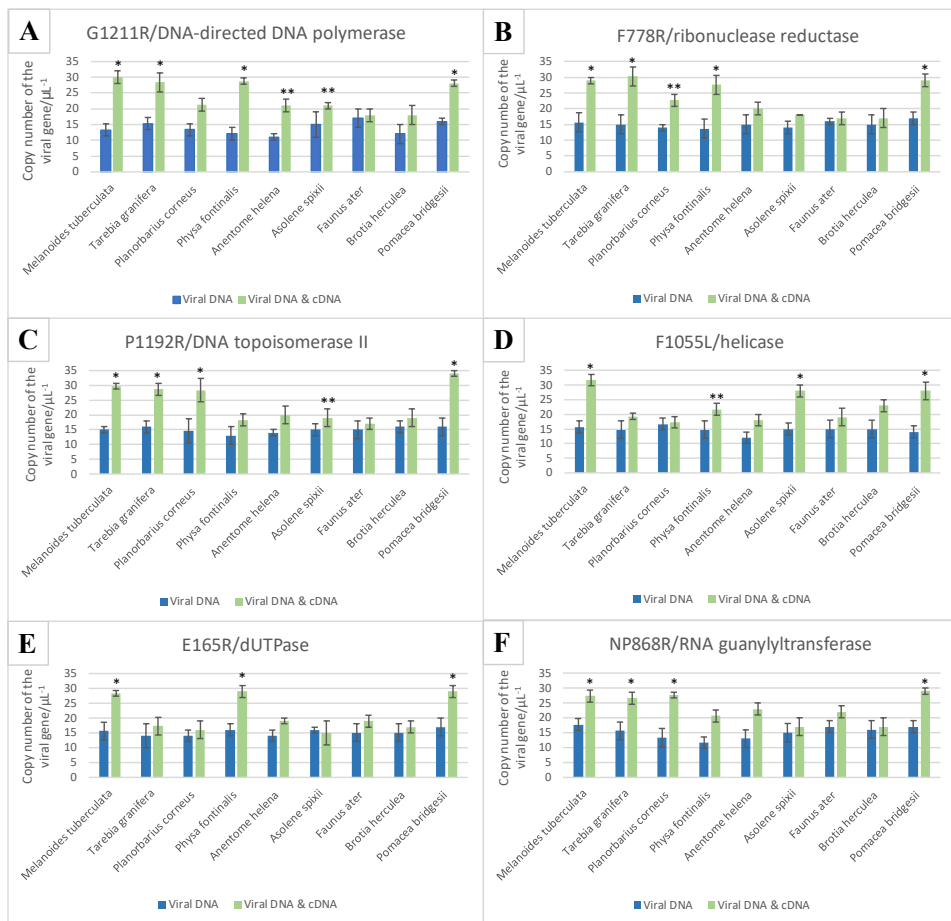
Նկար 6. ԽԱԺՎ գենոմի պարենիմների և վարակիչ մասնիկների հայտնաբերումը քաղցրահամ ջրերի խխունջների մարմիններում:

ԽԱԺՎ վաղ, ամբիվալենտ և ուշ գենների տրանսկրիպցիոն ակտիվությունը քաղցրահամ ջրերի խխունջներում

Հետազոտության համար ընտրվել են ԽԱԺՎ-ի 19 գեններ, որոնք ներգրավված են վիրուսի ռեպլիկացիայի, տրանսկրիպցիայի, նուկլեոտիդների նյութափոխանակության, ԴՆԹ-ի ռեպարացիայի գործընթացներում, ինչպես նաև կառուցվածքային գեններ: ԽԱԺՎ գեներն ըստ էքսպրեսիայի ժամանակի դասակարգվել են երեք խմբի՝ վաղ, ուշ և ամբիվալենտ (Cackett et al., 2020; Zheng et al., 2022; Xue et al., 2022):

Վաղ գենների տրանսկրիպցիոն ակտիվության արդյունքները ներկայացված են նկար 7-ում: Ընտրվել են հետևյալ վաղ գենները՝ ռիբոնուկլեոտիդային ռեդուկտազ (*F778R*), ԴՆԹ պոլիմերազ (*G1211R*), ԴՆԹ տոպոիզոմերազ II (*P1192R*), գուանիլիլ տրանսֆերազ (*NP868R*), dUTPase (*E165R*), հելիկազ (*F1055L*):

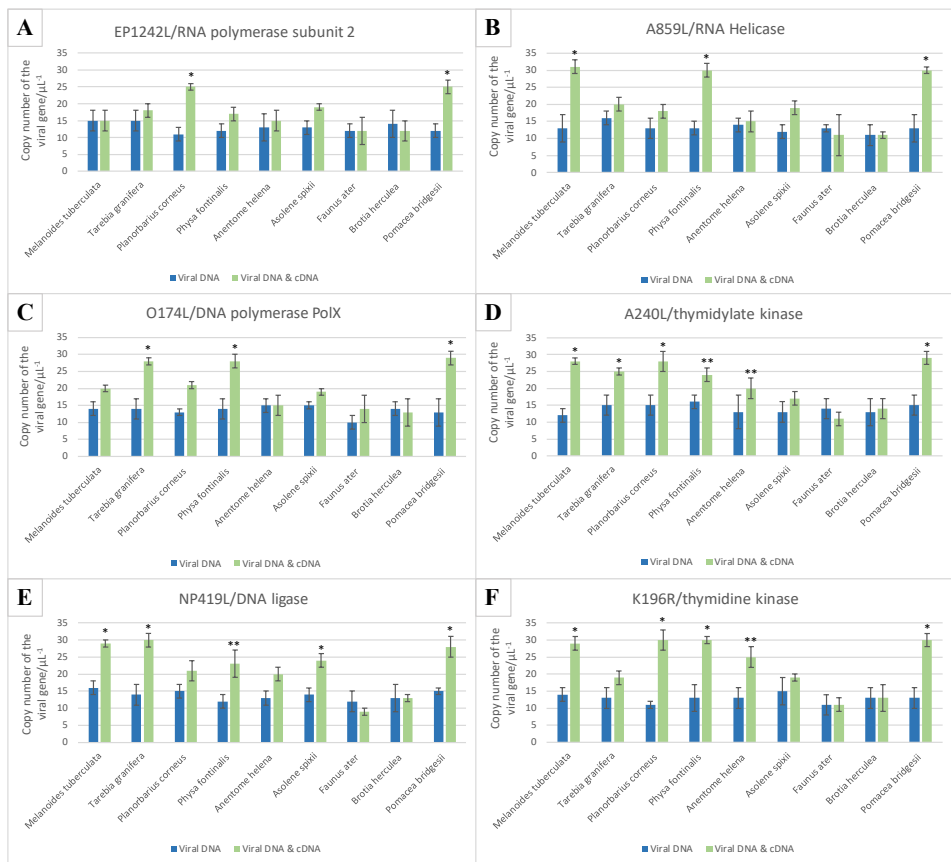
Բոլոր ուսումնասիրված ԽԱԺՎ վաղ գեներն ակտիվացված էին *Melanoides tuberculata* և *Pomacea bridgesii* տեսակների մոտ (նկ. 7A-F): *Tarebia granifera*-ում տրանսկրիպցիայի են ենթարկվել ԽԱԺՎ-ի 6 վաղ գեններից 4-ը՝ *F778R* (նկ. 7B), *G1211R* (նկ. 7A), *P1192R* (նկ. 7C) և *NP868R* (նկ. 7F): *Physa fontinalis*-ի մոտ արձանագրվել է երեք վաղ գենների էքսպրեսիա՝ *G1211R* (նկ. 7A), *F778R* (նկ. 7B), *E165R* (նկ. 7E): ԽԱԺՎ-ով վարակված *Planorbarius corneus*-ի դեպքում բարձր ակտիվություն է գրանցվել միայն *P1192R* (նկ. 7C) և *NP868R* (նկ. 7F) գենների համար: Իսկ *Asolene spixii*-ի դեպքում տրանսկրիպցիա է ենթարկվել միայն *F1055L* գենը: Ի տարբերություն վերը նշված տեսակների՝ *Anentome helena*, *Faunus ater* և *Brotia Herculea* խխունջների դեպքում ԽԱԺՎ վաղ գենների էքսպրեսիա չի գրանցվել (նկ. 7A-F):



Նկար 7. ԽԱՄՎ-ով վարակված ջրում 4 շաբաթ կուլտիվացիայից հետո քաղցրահամ ջրերի ուսումնասիրված ինը խխունջների մարմիններում 6 ԽԱՄՎ վաղ գեների տրանսկրիպցիոն ակտիվությունը: **A.** G1211R/ԴՆԹ պոլիմերազի գենի ակտիվություն: **B.** F778R/ռիբոնուկլեազ ռեդուկտազ գենի ակտիվություն: **C.** P1192R/ԴՆԹ տոպոիզոմերազ II գենի ակտիվություն: **D.** F1055L/հելիկազի գենի ակտիվություն: **E.** E165R/dUTPase գենի ակտիվություն: **F.** NP868R/RNA գուանիլիլտրանսֆերազի գենի ակտիվություն: (* արժանաշակաբար, $p < 0.05$, ** միտում, $p < 0.1$)

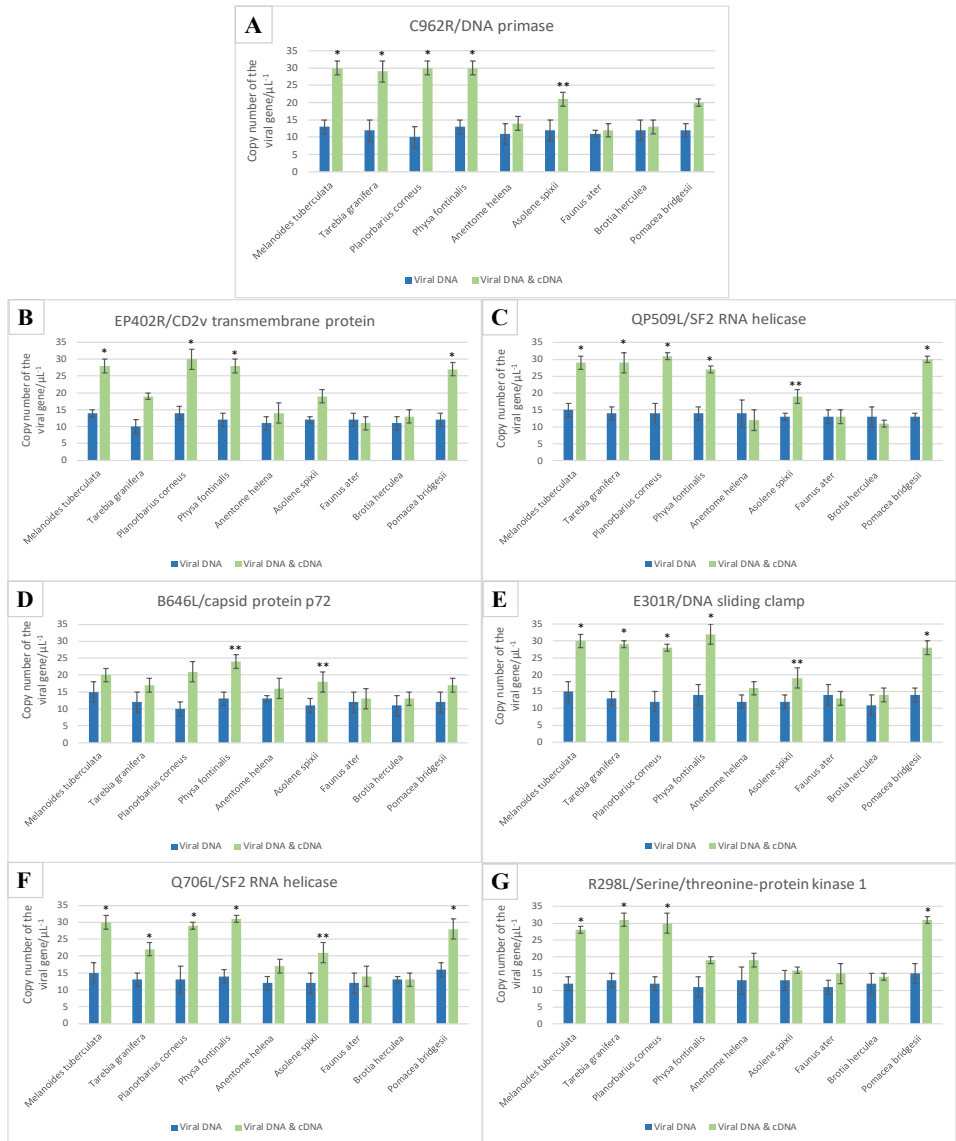
Նկար 8-ում պատկերված են քաղցրահամ ջրերի գաստրոպոդներում ԽԱՄՎ-ի ամբիվալենտ գեների տրանսկրիպցիոն ակտիվության արդյունքները: Ուսումնասիրվել են հետևյալ գենները՝ ՌՆԹ պոլիմերազի ենթամիավոր 2 (EPI242L), ՌՆԹ հելիկազ (A859L), ԴՆԹ պոլիմերազ PolX (O174L), թիմիդիլատ կինազ (A240L), ԴՆԹ լիգազ (NP419L) և թիմիդին կինազ (K196R):

Ուշագրավ է, որ ԽԱՄՎ-ով վարակված *Pomacea bridgesii*-ում տրանսկրիպցիոն ակտիվություն են ցուցաբերել բոլոր ուսումնասիրված ամբիվալենտ գենները (նկ. 8A-F):



Նկար 8. ԽՆԺԿ-ով վարակված ջրում 4 շաբաթ կուլտիվացիայից հետո քաղցրահամ ջրերի ուսումնասիրված ինը խխունջների մարմիններում 6 ԽՆԺԿ ամբիվալենտ գեների պրանսկրիպցիոն ակտիվությունը: **A.** EPI242L/ՌՆԹ պոլիմերազային ենթամիավոր 2 գենի ակտիվություն: **B.** A859L/ՌՆԹ հեղիկազի գենի ակտիվություն: **C.** O174L/ԴՆԹ պոլիմերազ PolX գենի ակտիվություն: **D.** A240L/թիմիդիլատ կինազի գենի ակտիվություն: **E.** NP419L/ԴՆԹ լիգազ գենի ակտիվություն: **F.** K196R/թիմիդին կինազի գենի ակտիվություն: (* արժանահավասար, $p < 0.05$, ** միջում, $p < 0.1$)

Melanoides tuberculata-ում ակտիվացված էին ամբիվալենտ 6 գեներից 4-ը՝ A859L (նկ. 8B), A240L (նկ. 8D), NP419L (նկ. 8E), K196R (նկ. 8F): *Tarebia granifera*-ի դեպքում գրանցվել է A240L (նկ. 8D), O174L (նկ. 8C) և NP419L (նկ. 8E) գեների էքսպրեսիա: *Physa fontinalis*-ի մոտ ակտիվություն է արձանագրվել A859L (նկ. 8B), O174L (նկ. 8C) և K196R (նկ. 8F) գեների համար: *Planorbarius corneus*-ի դեպքում EPI242L (նկ. 8A), A240L (նկ. 8D) և K196R (նկ. 8F) գեները ցուցաբերել են բարձր տրանսկրիպցիոն ակտիվություն: *Anentome helena*, *Asolene spixii*, *Faunus ater* և *Brotia herculea* տեսակներում ամբիվալենտ գեների էքսպրեսիա չի արձանագրվել:



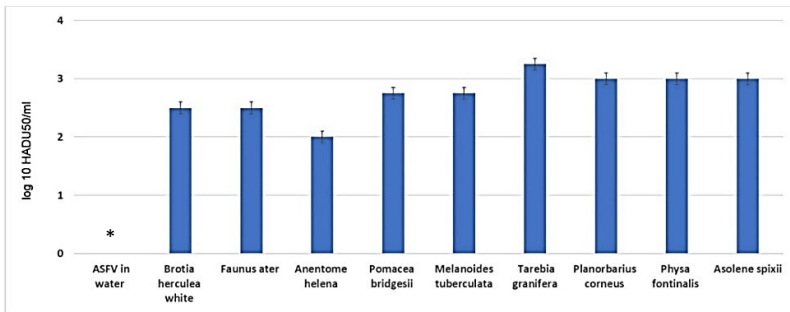
Նկար 9. ԽՆԺԿ-ով վարակված ջրում 4 շաբաթ կուլտիվացիայից հետո բացահայտված ջրերի ուսումնասիրված ինը խխունջների մարմիններում 7 ԽՆԺԿ ուղ գեների պրանսկրիպցիոն ակտիվությունը: **A.** C962R/ԴՆԹ primase-ի գենի ակտիվությունը: **B.** EP402R/CD2v թաղանթային սպիրակոցի գենի ակտիվությունը: **C.** QP509L/SF2 ՌՆԹ հեղկյազ գենի ակտիվությունը: **D.** B646L/կապսիդային սպիրակոց p72 գենի ակտիվությունը: **E.** E301R/ԴՆԹ sliding clamp գենի ակտիվությունը: **F.** Q706L/SF2 ՌՆԹ հեղկյազ գենի ակտիվությունը: **G.** R298L/Սերին/թրեոնին-սպիրակոցային կինազ 1 գենի ակտիվությունը: (*արժանահավասար, $p < 0.05$, ** միայն, $p < 0.1$)

Նկար 9-ում ներկայացված են քաղցրահամ ջրերի գաստրոպոդներում *ԽԱԺՎ*-ի 7 ուշ գեների տրանսկրիպցիայի արդյունքները: Ընտրվել են հետևյալ ուշ գեները՝ *ԴՆԹ* պրիմազ (*C962R*), *CD2v* թաղանթային սպիտակուց (*EP402R*), *SF2* ՌՆԹ հեղիկազ (*QP509L*), կապսիդային սպիտակուց *p72* (*B646L*), *ԴՆԹ* sliding clamp (*E301R*), *SF2* ՌՆԹ հեղիկազ (*Q706L*) և սերին/թրեոնին-սպիտակուց կինազ 1 (*R298L*):

Ուշ գեների գերակշիռ մեծամասնությունը (7-ից 6-ը) ցուցաբերել է տրանսկրիպցիոն ակտիվություն *ԽԱԺՎ*-ով վարակված *Melanoides tuberculata*-ում՝ *C962R* (նկ. 9A), *EP402R* (նկ. 9B), *E301R* (նկ. 9E), *QP509L* (նկ. 9C), *Q706L* (նկ. 9F), և *R298L* (նկ. 9G): *Pomacea bridgesii*-ում ակտիվ է եղել 5 ուշ գեն՝ *EP402R* (նկ. 9B), *E301R* (նկ. 9E), *QP509L* (նկ. 9C), *Q706L* (նկ. 9F) և *R298L* (նկ. 9G): *Physa fontinalis*-ի դեպքում գրանցվել է 6 գենի տրանսկրիպցիա՝ *C962R* (նկ. 9A), *EP402R* (նկ. 9B), *B646L* (նկ. 9D), *QP509L* (նկ. 9C), *E301R* (նկ. 9E), *Q706L* (նկ. 9F): *ԽԱԺՎ*-ով վարակված *Tarebia granifera*-ում ակտիվություն է ցուցաբերել 5 գեն՝ *C962R* (նկ. 9A), *E301R* (նկ. 9E), *QP509L* (նկ. 9C), *Q706L* (նկ. 9F), *R298L* (նկ. 9G): *Planorbarius corneus*-ում նույնպես արձանագրվել է մեծ թվով ուշ գեների տրանսկրիպցիոն ակտիվություն (7-ից 6 գեն)՝ *C962R* (նկ. 9A), *EP402R* (նկ. 9B), *E301R* (նկ. 9E), *QP509L* (նկ. 9C), *Q706L* (նկ. 9F), *R298L* (նկ. 9G): Ի տարբերություն վերը նշված տեսակների՝ *ԽԱԺՎ*-ով վարակված *Asolene spixii*, *Faunus ater*, *Anentome Helena* և *Brotia herculean* խխունջների մոտ *ԽԱԺՎ*-ի ուշ գեների էքսպրեսիա չի գրանցվել (նկ. 9A-G):

ԽԱԺՎ-ի վարակելիության պահպանումը

Հաջորդիվ մեր նպատակն էր պարզել, թե արդյոք գաստրոպոդների առկայությամբ ջրային միջավայրից անջատված *ԽԱԺՎ*-ը պահպանում է նորմալ բջիջներին վարակելու ունակությունը: Ինչպես ներկայացված է նկար 10-ում, *ԽԱԺՎ*-ի վարակելիությունը շարունակում է պահպանվել հայտնաբերման մակարդակում՝ ստուգիչ խմբի համեմատ:



Նկար 10. *ԽԱԺՎ*-ով վարակված ջրում քաղցրահամ ջրերի խխունջների կուլտիվացիայից 5 շաբաթ անց խոզերի ավելույար մակրոֆագերի վարակման տիմբերը: *արժանահավաքորեն ջածր՝ համեմապրած ուսումնասիրված մյուս խմբերի հետ ($p < 0.01$)

Վերոնշյալ տվյալների ամփոփումը վկայում է, որ քաղցրահամ ջրերի գաստրոպոդները, որոնցում արձանագրվել է *ԽԱԺՎ* գեների տրանսկրիպցիոն

ակտիվություն, հանդիսանում են վիրուսի երկարատև պահպանման առավել նպաստավոր միջավայր: Այդպիսի տեսակներն են *Pomacea bridgesii*, *Melanoides tuberculata*, *Tarebia granifera* և *Physa fontinalis*, որոնցում ուսումնասիրված ԽԱԺՎ վաղ, ամբիվալենտ և ուշ գեների մեծ մասը ցուցաբերել է տրանսկրիպցիոն ակտիվություն: Մյուս կողմից, այնպիսի տեսակների դեպքում, ինչպիսիք են *Anentome helena*-ն, *Faunus ater*-ը և *Brotia herculea white*-ը, ուսումնասիրված որևէ ԽԱԺՎ գենի տրանսկրիպցիոն ակտիվություն չի նկատվել, և այդ տեսակների մարմիններում վիրուսի երկարատև պահպանում չի արձանագրվել:

Հակասական արդյունքներ են գրանցվել *Planorbarius corneus*-ի և *Asolene spixii*-ի դեպքում: Մասնավորապես, *Planorbarius corneus*-ի մոտ ԽԱԺՎ գեների կեսից ավելին ակտիվ էին, սակայն վիրուսի երկարաժամկետ պահպանում չի դիտվել: Մինչդեռ *Asolene spixii*-ի մոտ վիրուսի պահպանումը եղել է համեմատաբար երկարատև, սակայն ուսումնասիրված 19 գեներից 11-ը չի ցուցաբերել տրանսկրիպցիոն ակտիվություն:

Այս տարբեր արդյունքներն ընդգծում են գաստրոպոդների մոտ ԽԱԺՎ-տեղ փոխազդեցությունների տեսակ-սպեցիֆիկ դինամիկան և ենթադրում, որ վարակի ելքը հավանաբար կախված է ինչպես վիրուսային, այնպես էլ տիրոջ գործոններից: Գաստրոպոդների որոշ տեսակներ, ըստ երևույթին, ունեն բնական դիմադրողականություն ԽԱԺՎ վարակի նկատմամբ կամ ունակ են արագորեն վերացնել վիրուսը նախքան վիրուսային գեների էքսպրեսիայի սկիզբը: Այս տարբերությունները կարող են բխել գաստրոպոդների ֆիզիոլոգիական կամ վարքաբանական առանձնահատկություններից, ինչպես, օրինակ, սնման արագությունը, արտազատման ձևերը կամ ընդհանուր ֆիզիկական վիճակը, որոնցից յուրաքանչյուրը կարող է ազդել վիրուսի պահպանման ունակության վրա: Մի շարք այլ գործոններ, այդ թվում՝ իմունային պատասխանը կամ խխունջների՝ որոշակի հյուսվածքներում վիրուսը մեկուսացնելու ունակությունը, նույնպես կարող են ազդել վիրուսի հետ այս տեսակների փոխազդեցության վրա:

Ուսումնասիրված քաղցրահամ ջրերի խխունջների մոտ ԽԱԺՎ երկարատև գոյատևումը կարող է պայմանավորված լինել երկու գործոնով: Նախ՝ գաստրոպոդները արտադրում են որոշակի նյութ, որը նպաստում է վիրուսի կայունացմանը, և վիրուսն ավելի դանդաղ է անհետանում: Սակայն մեր նախորդ փորձարկումները ցույց են տվել, որ խխունջների հոմոգենիզացված նմուշները չեն մեծացնում վիրուսի կայունությունը (չիրապարակված տվյալներ): Երկրորդ և առավել հավանական վարկածն այն է, որ վիրուսը վերարտադրվում է գաստրոպոդների օրգանիզմում: Հարկ է նշել, որ փորձերի ընթացքում ջրային միջավայրը նույն էր ինչպես փորձարարական, այնպես էլ ստուգիչ խմբերի համար՝ բացառելով այլ կենդանի օրգանիզմների առկայության ազդեցությունը: Թեև մեր արդյունքները միանշանակորեն չեն հերքում առաջին վարկածը, ավելի մեծ հավանականությամբ վկայում են երկրորդի օգտին՝ ենթադրելով, որ որոշ գաստրոպոդներ կարող են ծառայել որպես ԽԱԺՎ վերարտադրության հնարավոր միջավայր:

ԽԱԺՎ-ի ուշ գեները, որոնք կապված են վիրուսի երկարատև պահպանման և տրանսկրիպցիոն ակտիվության հետ, ակտիվացել են միայն այն գաստրոպոդների մոտ, որոնցում վիրուսը պահպանվել է: Հետևաբար կարող ենք պնդել, որ վիրուսի

ներթափանցման գործընթացը տվյալ տեսակներում հաջողությամբ է իրականացվել: Բացի այդ, 4-րդ շաբաթվա վերջում, երբ ստուգիչ ջրում վիրուսային մասնիկներ չէին հայտնաբերվում, ԽԱԺՎ-ի մակարդակի չափումը ցույց է տվել գաստրոպոդների մարմնում վիրուսի պահպանման ունակությունը:

Մասնավորապես, B646L գենը, որը կոդավորում է p72 կապսիդային սպիտակուցը և մասնակցում է ցիտոպլազմայի «վիրուսային գործարաններում» վիրուսային մասնիկների ձևավորման վերջնական փուլերին, էքսպրեսիա է ցուցաբերել միայն *Physa fontinalis* և *Asolene spixii* խխունջների մոտ: Այս դիտարկումը ենթադրում է, որ որոշ գաստրոպոդներում վիրուսային մասնիկների հավաքման գործընթացը կարող է խթանվել վերջնական փուլերում՝ դեռևս չպարզված գործոնների ազդեցությամբ, հնարավոր է՝ աբորտիվ ռեպլիկացիայի հետևանքով:

Որոշ վիրուսներ ունեն օպտիմալ ջերմաստիճանային միջակայք, որը թույլ է տալիս ավելի արդյունավետ վերարտադրվել: Բարձր ջերմաստիճանը կարող է վնասել ինչպես վիրուսային մասնիկները, այնպես էլ վիրուսի վերարտադրության համար անհրաժեշտ տեր բջջի ռեպլիկացիոն ապարատը: Մինչդեռ չափազանց ցածր ջերմաստիճանները կարող են դանդաղեցնել վիրուսի ռեպլիկացիայի համար անհրաժեշտ նյութափոխանակության գործընթացները (Jian et al., 2012): Խոզերի մարմնի ջերմաստիճանը 38-39°C է, որը օպտիմալ է ԽԱԺՎ-ի վերարտադրության համար: Այդուհանդերձ, մեր փորձարարական պայմաններում գաստրոպոդների ակվարիումը պահվել է 22-24°C ջերմաստիճանում, ինչը համարվում է ֆիզիոլոգիապես բարենպաստ միջավայր բարեխառն շրջանների քաղցրահամ ջրերի շատ խխունջների տեսակների համար: Այսպիսի ցածր ջերմաստիճանային պայմանները հնարավոր է, որ ազդել են ԽԱԺՎ-ի վերարտադրության արդյունավետության վրա: Հետևաբար, հետազոտված գաստրոպոդների մոտ որոշ գեների էքսպրեսիայի բացակայությունը հնարավոր չէ միանշանակ վերագրել վիրուս-տեր անհամատեղելիությանը: Բացի այդ, չենք կարող լիովին բացատրել այն հնարավորությունը, որ որոշ գաստրոպոդներում (օրինակ՝ *Melanoides tuberculata*, *Tarebia granifera*, *Pomacea bridgesii*, *Physa fontinalis*) ԽԱԺՎ-ը կարող է ավարտել իր ռեպլիկացիոն ցիկլը:

Ընդհանուր առմամբ, ԽԱԺՎ գեների ոչ լիարժեք ակտիվացումը ուսումնասիրված քաղցրահամ ջրերի ինը խխունջների մոտ ընդգծում է վիրուս-տեր փոխազդեցությունների բարդ բնույթը: Այս ոչ ավանդական տեր օրգանիզմների մոտ ԽԱԺՎ-ի կայունության և տրանսկրիպցիոն կարգավորման հիմքում ընկած մեխանիզմները պարզաբանելու համար անհրաժեշտ են հետազոտվող ուսումնասիրություններ, որոնք կներառեն գենետիկական մարկերների և տիրոջ իմունային պատասխանների ավելի լայն շրջանակ: Ստացված արդյունքները ենթադրում են, որ գաստրոպոդները կարող են էական դեր խաղալ շրջակա միջավայրում ԽԱԺՎ-ի երկարատև պահպանման համար: Այս ուղղությամբ լրացուցիչ հետազոտությունները կօգնեն պարզաբանել վիրուսի գոյատևման մեխանիզմները և գնահատել համաճարակաբանական հետևանքները բնական պայմաններում:

ԵԶՐԱԿԱՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ

1. Հայտնաբերվել են քաղցրահամ ջրերի գաստրոպոդների տեսակներ, որոնք ապահովում են ԽԱԺՎ-ի երկարատև պահպանումը: Մասնավորապես, ցույց է տրվել ԽԱԺՎ-ի երկարատև պահպանումը *Pomacea bridgesii*, *Tarebia granifera*, *Physa fontinalis* և *Melanoides tuberculata* խխունջների օրգանիզմում և կղանքում ինչպես վիրուսային մասնիկների, այնպես էլ գենոմի պատճենների տեսքով:

2. ԽԱԺՎ-ի երկարատև պահպանումը քաղցրահամ ջրերի որոշ գաստրոպոդներում պայմանավորված է ԽԱԺՎ գենների տրանսկրիպցիոն ակտիվությամբ: Զրում, կղանքում և մարմնում ԽԱԺՎ-ի երկարատև պահպանումն ապահովող խխունջները (*Melanoides tuberculata*, *Tarebia granifera*, *Pomacea bridgesii*, *Physa fontinalis*, *Planorbarius corneus*) նաև ցուցաբերում են վիրուսային գենների տրանսկրիպցիոն ակտիվություն: Խխունջները, որոնց դեպքում չի գրանցվել վիրուսի երկարատև պահպանում, (*Anentome helena*, *Faunus ater*, *Brotia herculea*) չեն ցուցաբերում վիրուսային գենների տրանսկրիպցիոն ակտիվություն:

3. ԽԱԺՎ-ը պահպանում է իր վարակելիությունը ջրային միջավայրում գաստրոպոդների առկայության դեպքում:

Այս եզրակացությունների հիման վրա կարող ենք ասել, որ քաղցրահամ ջրերի գաստրոպոդները կարող են հանդիսանալ Խոզերի աֆրիկյան ժանտախտի վիրուսի պահպանման համար էկոլոգիական խորշ:

ՀՐԱՊԱՐԱԿԱԾ ԱՇԽԱՏԱՆՔՆԵՐ

1. Poghosyan A, Hakobyan S, Avagyan H, Avetisyan A, Bayramyan N, Hakobyan L, Abroyan L, Davtyan A, Poghosyan D, Baghdasaryan B, Arakelova E, Karalova E, Karalyan Z. The role of gastropods in African swine fever virus ecology. **Virol J.** 2024 Aug 7;21(1):180. doi: 10.1186/s12985-024-02444-5
2. Avagyan H, Hakobyan S, Baghdasaryan B, Arzumanyan H, Poghosyan A, Bayramyan N, Semerjyan A, Sargsyan M, Voskanyan H, Vardanyan T, Karalyan N, Hakobyan L, Abroyan L, Avetisyan A, Karalova E, Semerjyan Z, Karalyan Z. Pathology and Clinics of Naturally Occurring Low-Virulence Variants of African Swine Fever Emerged in Domestic Pigs in the South Caucasus. **Pathogens.** 2024 Jan 29;13(2):130. doi: 10.3390/pathogens13020130
3. Poghosyan A. Immunopathology of porcine viral hemorrhagic fevers. Electronic Journal of Natural Sciences of NAS RA of Armenia. Volume 41, Issue 2, p. 27-30, 2023.
4. Avagyan HR, Hakobyan SA, Avetisyan AS, Bayramyan NV, Hakobyan LH, Poghosyan AA, Abroyan LO, Baghdasaryan BV, Tsakanova GV, Sahakyan LV, Yeremyan AS, Karalyan ZA. The pattern of stability of African swine fever virus in leeches. **Vet Microbiol.** 2023 Sep;284:109835. doi: 10.1016/j.vetmic.2023.109835

5. Avagyan HR, Hakobyan SA, Poghosyan AA, Bayramyan NV, Arzumanyan HH, Abroyan LO, Avetisyan AS, Hakobyan LA, Karalova EM, Karalyan ZA. African Swine Fever Virus Manipulates the Cell Cycle of G0-Infected Cells to Access Cellular Nucleotides. **Viruses**. 2022 Jul 22;14(8):1593. doi: 10.3390/v14081593
6. Hakobyan SA, Ross PA, Bayramyan NV, Poghosyan AA, Avetisyan AS, Avagyan HR, Hakobyan LH, Abroyan LO, Harutyunova LJ, Karalyan ZA. Experimental models of ecological niches for African swine fever virus. **Vet Microbiol**. 2022 Mar;266:109365. doi: 10.1016/j.vetmic.2022.109365

ПОГОСЯН АРПИНЕ АРМЕНОВНА
ПРЕСНОВОДНЫЕ БРЮХОНОГИЕ МОЛЛЮСКИ КАК ВОЗМОЖНАЯ
ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ НИША РАСПРОСТРАНЕНИЯ ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ
СВИНЕЙ

РЕЗЮМЕ

Ключевые слова: Вирус африканской чумы свиней, трансмиссия вируса, экологические ниши, пресноводные улитки, экспрессия вирусных генов.

Африканская чума свиней (АЧС) — вирусное геморрагическое заболевание, которое вызывает высокую смертность (почти 100%) у домашних свиней (*Sus scrofa domesticus*) и диких кабанов Евразии. Возбудителем заболевания является вирус африканской чумы свиней (семейство Asfarviridae), естественными резервуарами которого являются устойчивые к вирусу дикие свиньи, обитающие в Африке (например, *Phacochoerus africanus*, *Potamochoerus porcus*), и эндемичные клещи *Ornithodoros moubata*.

На сегодняшний день в Евразийском регионе не выявлено ни одного организма, который мог бы служить экологической нишей/резервуаром/переносчиком вируса. Тем не менее, вирус АЧС в Евразии сохраняется и его ареал расширяется. Выявление причин устойчивости и успешного распространения вируса без естественных резервуаров является важнейшей задачей современной ветеринарной эпизоотологии.

Выбор пресноводных улиток для нашего исследования был обусловлен рядом других исследований. В 2020 году команда Мацуямы обнаружила новый вирус, Abalone asfa-like вирус (AbALV), который поражает морского брюхоногого моллюска *Haliotis diversicolor*. Дальнейшие эксперименты показали, что средняя попарная идентичность аминокислот между геномами AbALV и вируса АЧС составила 33,97%, и что AbALV может быть вторым членом семейства Asfarviridae (Matsuyama et al., 2023). В 2022 году в нашей лаборатории была продемонстрирована способность вируса АЧС сохраняться в течение длительного времени (60–75 дней) в организме наземной улитки *Xeropicta derbentina* (Nakobuyan et al., 2022). Кроме того, филогенетическое исследование гомологичных генов вируса АЧС, проведенное лабораториями Hannat и Zhao (2023), выявило вирусные последовательности в геноме морского брюхоногого моллюска *Elysia marginata*. Полученные результаты свидетельствуют о том, что горизонтальный перенос генов, распространенный механизм взаимодействия хозяина и вируса, может играть определенную роль в эволюции и распространении вируса АЧС.

Целью данной работы было выявление роли 9 видов пресноводных брюхоногих моллюсков (*Faunus ater*, *Brotia herculea white*, *Pomacea bridgesii*, *Physa fontinalis*,

Tarebia granifera, *Melanoides tuberculata*, *Anentome Helena*, *Planorbarius corneus*, *Asolene spixii*) (тип Molluscae) в экологии вируса африканской чумы свиней (штамм Армения 08) как потенциальной экологической ниши.

Для достижения цели поставлены следующие **задачи**:

1. Изучить период сохранения вируса АЧС у 9 видов пресноводных улиток, акцентируя внимание как на инфекционные частицы, так и на копии генома в их организмах и фекалиях.
2. Изучить транскрипционную активность генов вируса АЧС у всех исследуемых видов гастроподов, чтобы выявить их способность поддерживать активность вирусных генов.
3. Оценить инфекционный потенциал вируса АЧС в водной среде в присутствии гастроподов.

Нами выявлено, что в присутствии пресноводных улиток вирус в воде сохраняется намного дольше, по сравнению с аналогичными условиями, но без гастропод и сохраняет свой инфекционный потенциал. Вирус проникает в тело улиток и без заметной патологии остается в организмах *Melanoides tuberculata*, *Tarebia granifera*, *Pomacea bridgesii*, *Physa fontinalis*, *Planorbarius corneus*, вплоть до 10 недели после заражения.

Нами показана транскрипционная активность большинства генов вируса АЧС в организмах тех улиток, которые обеспечивают максимально длительные сроки выживания вируса. Транскрипционная активность генов вируса АЧС не является одномоментным процессом, а последовательным: вначале активируются ранние гены, затем поздние и параллельно с этим происходит транскрипция амбивалентных генов. Нами выявлена активация всех трех групп генов вируса АЧС в организмах улиток, обеспечивающих выживание вируса. В организме некоторых из вышеуказанных улиток транскрибируется и поздний ген B646L, который являясь капсидным белком, является индикатором заключительного процесса репликационного цикла вируса АЧС.

После пяти недель (в более ранние сроки из воды без улиток, вирус АЧС не способен вызвать инфекцию) инкубации в среде с пресноводными улитками *Melanoides tuberculata*, *Tarebia granifera*, *Pomacea bridgesii*, *Physa fontinalis*, *Planorbarius corneus* вирус оказывается способным вызывать продуктивную инфекцию в первичной культуре альвеолярных макрофагов свиней.

Проведенные исследования указывают на роль ряда пресноводных моллюсков как факторов выживания вируса АЧС в окружающей среде и их вероятную роль в качестве экологической ниши для вируса.

POTENTIAL ROLE OF FRESHWATER GASTROPODS AS AN ECOLOGICAL NICHE FOR AFRICAN SWINE FEVER VIRUS

SUMMARY

Key words: African swine fever virus, virus transmission, ecological niches, freshwater snails, viral gene expression.

African swine fever (ASF) is a viral hemorrhagic disease that causes high mortality (almost 100%) in domestic pigs (*Sus scrofa domesticus*) and wild boars in Eurasia. The causative agent of the disease is the African swine fever virus (family Asfarviridae), whose natural reservoirs are wild boars, resistant to the virus and endemic ticks living in Africa (e.g., *Phacochoerus africanus*, *Potamochoerus porcus*, and *Ornithodoros moubata*).

To date, no organism has been identified in the Eurasian region that could serve as an ecological niche, reservoir, or vector for the virus. However, the ASFV persists in Eurasia, and its range continues to expand. Identifying the mechanisms behind the virus's persistence and spread without natural reservoirs is a key challenge in modern veterinary epizootiology.

The choice of freshwater snails for our study was motivated by findings from several previous studies. In 2020, Matsuyama et al. discovered a novel virus, the Abalone asfa-like virus (AbALV), which infects the marine gastropod *Halotis diversicolor*. Further experiments showed that the average pairwise amino acid identity between the AbALV and ASFV genomes was 33.97%, suggesting that AbALV may be a second member of the *Asfarviridae* family (Matsuyama et al., 2023). In 2022, our lab demonstrated that ASFV can persist for an extended period (60–75 days) in the land snail *Xeropicta derbentina* (Hakobyan et al., 2022). Additionally, a phylogenetic study of homologous ASFV genes conducted by the laboratories of Hannat and Zhao (2023) identified viral sequences in the genome of the marine gastropod *Elysia marginata*. These findings suggest that horizontal gene transfer—a common mechanism of host-virus interaction—may contribute to the evolution and spread of ASFV.

The **purpose** of this study is to reveal the role of 9 species of freshwater gastropods (*Faunus ater*, *Brotia herculea white*, *Pomacea bridgesii*, *Physa fontinalis*, *Tarebia granifera*, *Melanoides tuberculata*, *Anentome Helena*, *Planorbarius corneus*, *Asolene spixii*) (phylum *Molluscae*) in the ecology of African swine fever virus (Armenia 08 strain) as a possible ecological niche.

For achieving this goal, the following **tasks** were set:

1. To explore the period in which ASFV persists in gastropods, focusing on both infectious particles and genome copies in the organisms and their feces.

2. To examine the transcriptional activity of ASFV genes in all studied gastropod species to investigate their possibilities to support activity of viral genes.
3. To assess the infectivity of ASFV in aquatic environments with the presence of gastropods.

We found that in the presence of freshwater snails, the virus persists in water much longer than under similar conditions without gastropods, while retaining its infectious potential. The virus penetrates snail tissues and remains without noticeable pathological changes in the organisms of *Melanoides tuberculata*, *Tarebia granifera*, *Pomacea bridgesii*, *Physa fontinalis*, and *Planorbarius corneus* for up to 10 weeks post-infection.

We demonstrated the transcriptional activity of most ASF virus genes in those snails that support prolonged viral survival. This activity is not a one-time event but a sequential process: early genes are activated first, followed by late genes, alongside the transcription of ambivalent genes. We detected the activation of all three gene groups in snails that support viral persistence. Notably, the late gene B646L, which encodes a capsid protein, serves as an indicator of the final stage in the ASFV replication cycle and was active in some of the freshwater snails.

After five weeks of incubation in water containing freshwater snails (*Melanoides tuberculata*, *Tarebia granifera*, *Pomacea bridgesii*, *Physa fontinalis*, *Planorbarius corneus*), the virus was capable of initiating productive infection in primary cultures of porcine alveolar macrophages—whereas earlier incubation in snail-free water did not result in infection.

These findings suggest that certain species of freshwater gastropods may play a role in the environmental survival of the ASFV and could potentially serve as ecological niches for its persistence.

