

А. Д. Севастьянова, М. Н. Мукминов

ФИЛОГЕОГРАФИЧЕСКИЕ СВЯЗИ NOSEMA APIS НА УРОВНЕ ПАСЕКИ

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

Поступила в редакцию 15.02.2026 г.

Принята к публикации 30.03.2026 г.

doi: 10.5922/vestniknat-2026-2-10

141

Для цитирования: Севастьянова А. Д., Мукминов М. Н. Филогеографические связи *Nosema Apis* на уровне пасеки // Вестник Балтийского федерального университета им. И. Канта. Сер.: Естественные науки. 2026. №2. С. 141 – 155. doi: 10.5922/vestniknat-2026-2-10.

Представлены результаты комплексного анализа генетического разнообразия микроспоридий *Nosema apis* – возбудителя нозематоза медоносных пчел (*Apis mellifera*) – на примере отдельной пасеки, расположенной в Лаишевском районе Республики Татарстан. Проведена идентификация гаплотипического состава возбудителя и оценка его филогеографических связей с евразийскими изолятами на основе полиморфизма гена белка полярной трубки РТРЗ. Установлено, что все исследованные пчелы были инфицированы *N. apis*. Секвенирование и последующее клонирование гетерозиготных образцов выявило присутствие двух аминокислотных вариантов белка РТРЗ в пределах одного улья. Один из них полностью совпал с доминирующим евразийским гаплотипом, ранее описанным в популяциях паразита из Словении, Испании и Турции. Второй вариант является уникальным для данного исследования и отличается от основного единичной несинонимичной заменой (лейцин вместо пролина в позиции, предположительно соответствующей 112-му кодону белка). Выявлена слабая положительная корреляционная связь между высокой интенсивностью инвазии (споровая нагрузка >150 тыс. спор) и принадлежностью пчел к гибридным формам с участием среднерусской и серой горной кавказской пород ($r=0,25$; $p<0,05$).

Ключевые слова: *Nosema apis*, *Apis mellifera*, нозематоз, гаплотип, филогеография, морфометрия пчел, генетический полиморфизм, корреляционный анализ

Введение

Медоносные пчелы (*Apis mellifera* Linnaeus, 1758) выполняют незаменимую экосистемную функцию опылителей энтомофильных культур и дикорастущих растений, обеспечивая тем самым поддержание биоразнообразия, устойчивость естественных фитоценозов и продовольственную безопасность в глобальном масштабе [1–3]. Экономическая ценность опылительной деятельности пчел многократно превышает стоимость всех продуктов пчеловодства, вместе взятых, и оценивается



в сотни миллиардов долларов ежегодно [4]. В последние десятилетия мировая пчеловодческая отрасль столкнулась с серьезным вызовом — ростом заболеваемости и массовой гибелью пчелиных семей, известным как Colony Collapse Disorder (CCD). Исследования последних лет убедительно доказывают, что CCD имеет мультифакторную природу [5] и связано с комплексным воздействием биотических и абиотических стрессоров, среди которых ключевую роль играют патогены [6–16], антропогенный стресс (в том числе использование пестицидов) [17–23], дефицит кормовой базы и климатические факторы [24; 25].

Среди инфекционных патогенов медоносных пчел особое место занимают микроспоридии рода *Nosema* (Naegeli, 1857), облигатные внутриклеточные паразиты, поражающие эпителиальные клетки средней кишки имаго и вызывающие нозематоз — широко распространенное инвазионное заболевание, наносящее значительный экономический ущерб пчеловодству во всем мире [5; 7; 9; 10; 23]. Два основных вида — *Nosema apis* (Zander, 1909) и *Nosema ceranae* (Fries et al., 1996) — различаются по происхождению, патогенезу, эпидемиологическим характеристикам и географическому распространению.

N. apis традиционно считается палеарктическим видом, длительное время эволюционировавшим в популяциях европейской темной пчелы (*A. m. mellifera*) [6; 8; 9; 12; 13; 16]. Для него характерна выраженная сезонность с пиком заболеваемости в конце зимы — начале весны, что связано с длительным периодом вынужденного воздержания от дефекации и накоплением спор в кишечнике [10; 19]. *N. ceranae*, исходно паразитировавшая на азиатской пчеле (*A. cerana* Fabricius, 1793), в результате интенсивной международной торговли и глобализации пчеловодства в настоящее время приобрела пантропическое распространение и часто доминирует в теплых климатических зонах, вытесняя аборигенного паразита [7; 11; 13; 15]. Однако в регионах с умеренным и холодным климатом, включая значительную часть территории Российской Федерации, оба вида могут встречаться как раздельно, так и в виде микст-инфекций. При этом *N. apis* сохраняет свою экологическую нишу, будучи физиологически адаптированным к длительному зимнему периоду покоя пчелиной семьи [1; 6; 7; 9; 16].

Изучение внутривидовой генетической изменчивости возбудителей нозематоза является одним из ключевых вопросов современной экологии, эпизоотологии, популяционной биологии и генетики паразитов. Полиморфизм генов, кодирующих белки полярной трубки (polar tube proteins, РТР), в частности РТР3, становится объектом особого научного и прикладного интереса. Полярная трубка — это уникальный органоид микроспоридий, представляющий собой высокоорганизованную структуру, которая при активации споры в просвете кишечника хозяина экструдируется со сверхзвуковой скоростью, пробивает мембрану эпителиоцита и служит каналом для инокуляции инфекционной спороплазмы непосредственно в цитоплазму клетки-мишени [9]. Белки РТР выступают основными структурными компонентами полярной трубки, и их аминокислотная последовательность высоко консервативна, поскольку любые существенные изменения могут нарушить процесс сборки трубки или ее функционирование. Тем не менее исследования последнего



десятилетия выявили существование определенного уровня внутривидового полиморфизма генов РТР, который может быть связан с адаптацией к различным условиям среды, хозяйинной специфичностью или различиями в вирулентности разных штаммов паразита [9]. В частности, вариации в структуре РТРЗ могут потенциально влиять на эффективность инвазии клеток хозяина, скорость репродукции паразита и, как следствие, на тяжесть течения инфекционного процесса.

Несмотря на очевидную значимость, популяционная генетика *Nosema* spp. на территории Российской Федерации, особенно в ее восточноевропейской части и Поволжье, остается практически неизученной. Имеющиеся фрагментарные данные касаются в основном распространенности нозематоза в различных регионах, но не затрагивают вопросы генетической структуры и филогеографических связей местных изолятов с европейскими и азиатскими популяциями паразита [5–9]. Цель настоящего исследования заключалась в комплексной характеристике популяции *N. apis*, циркулирующей в условиях отдельно взятой пасеки Республики Татарстан, с определением генетического разнообразия паразита на основе анализа гена РТРЗ и установлением филогеографических связей выявленных гаплотипов с изолятами из других регионов Евразии. Дополнительной задачей являлась оценка взаимосвязи между морфометрическими характеристиками пчел-хозяев и интенсивностью инвазионного процесса.

Материалы и методы

Сбор биологического материала и пробоподготовка. Образцы ($n=50$) погибших рабочих особей медоносной пчелы были собраны в апреле 2023 г. у летка и на крайних рамках одного улья, расположенного на территории частной пасеки в Лаишевском районе Республики Татарстан (географические координаты: $55^{\circ}24'$ с. ш., $49^{\circ}33'$ в. д.). Отбор проводили в утренние часы, пчел без признаков механических повреждений помещали в индивидуальные пробирки типа Eppendorf с 70%-ным раствором этанола. Транспортировку осуществляли в термоконтейнере при температуре $+4^{\circ}\text{C}$, дальнейшее хранение до момента анализа — при -20°C .

Морфометрическая идентификация подвидовой принадлежности. Для уточнения подвидового состава исследуемой выборки проводили комплекс морфометрических измерений согласно общепринятым методикам пчеловодной биометрии [6; 8; 23]. Измерения выполняли с использованием стереомикроскопа «Биомед-3» (Россия), оснащенного окуляр-микрометром, и программного обеспечения ScoreTek и ImageJ (НИН, США). У каждой пчелы измеряли следующие признаки: длину хоботка, длину и ширину правого переднего крыла, кубитальный индекс, длину голени задней конечности. Полученные данные сопоставляли с породными стандартами для среднерусской (*A. m. mellifera*), серой горной кавказской (*A. m. caucasica*), карнийской (*A. m. carnica*) пород и их гибридов.

Микроскопическое исследование и оценка споровой нагрузки. Каждую пчелу предварительно трижды отмывали в дистиллированной воде



для удаления поверхностных загрязнений и консерванта, после чего индивидуально гомогенизировали в ступке с добавлением 1,0 мл стерильной воды. Из полученного гомогената готовили временные препараты (объем капли — 20 мкл), которые исследовали методом фазово-контрастной микроскопии с использованием композиционного микроскопа «Биомед-3» при увеличении $\times 400$. Наличие, морфологию и количество спор оценивали в 10 полях зрения для каждого образца. Споровую нагрузку выражали в пересчете на всю пчелу с учетом общего объема гомогената.

Выделение тотальной ДНК. Тотальную ДНК экстрагировали из 200 мкл пчелиного гомогената с использованием коммерческого набора EZNA Tissue DNA Kit (Omega Bio-tek, Inc., США) в строгом соответствии с протоколом производителя для тканей насекомых. Элюцию ДНК проводили 50 мкл буфера. Концентрацию и чистоту выделенной ДНК оценивали спектрофотометрически на NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, США). Образцы ДНК хранили при -20°C до момента постановки ПЦР.

Полимеразная цепная реакция и электрофорез. Видовую идентификацию микроспоридий проводили методом ПЦР с праймерами, специфичными для гена белка полярной трубки 3 (РТР3) *N. apis* (ожидаемый размер фрагмента — 321 п. н.) [5; 7; 9]. Реакционная смесь объемом 25 мкл содержала: 1 \times ПЦР-буфер, 2,5 мМ MgCl_2 , по 200 мкМ каждого дНТФ, по 0,4 мкМ прямого и обратного праймеров, 1,25 ед. Taq-полимеразы (Синтол, Россия) и 50 нг ДНК-матрицы. Амплификацию осуществляли в термоциклере T100 (Bio-Rad Laboratories Ltd., Канада) по следующей программе: начальная денатурация 95°C — 3 мин; 35 циклов: 95°C — 30 с, 58°C — 30 с, 72°C — 45 с; финальная элонгация 72°C — 7 мин. Продукты ПЦР разделяли в 1,5%-ном агарозном геле с добавлением бромистого этидия (0,5 мкг/мл) в 1 \times TAE-буфере при напряжении 100 В в течение 40 мин. Визуализацию и документирование результатов проводили в системе гель-документирования GelDoc XR+ (Bio-Rad, США) в проходящем УФ-свете [26; 27].

Секвенирование и филогенетический анализ. Очистку ПЦР-продуктов от праймеров и неспецифических фрагментов проводили с использованием набора CleanUp (Евроген, Россия). Секвенирование по методу Сэнгера выполняли на базе компании «Синтол» (Россия) с использованием тех же праймеров, что и для амплификации. При выявлении на хроматограммах перекрывающихся пиков, свидетельствующих о наличии разных аллелей в образце, проводили клонирование фрагментов в плазмидный вектор pT7Blue (Novagen, США) с последующей трансформацией компетентных клеток *E. coli* штамма DH5 α . Трансформированные клетки высевали на среду LB с ампициллином (100 мкг/мл), X-Gal (40 мкг/мл) и IPTG (0,1 мМ). Отбирали не менее 5 белых колоний для каждого исходного образца. Плазмидную ДНК выделяли методом щелочного лизиса с использованием набора Miniprep (Евроген, Россия) и подвергали повторному секвенированию. Полученные нуклеотидные последовательности редактировали в программе Chromas 2.6.6 и транслировали в аминокислотные с использованием алгоритма EMBOSS Transeq. Для сравнительного анализа использовали референсные последовательности белка РТР3 *N. apis* из международной базы дан-



ных GenBank (NCBI), охватывающие изоляты из Словении (Accession № KX389272), Испании (KX389275), Турции (KX389278). Выравнивание последовательностей проводили в программе MEGA X с использованием алгоритма Clustal W. Построение медианной сети гаплотипов выполняли в программной среде PopART v. 1.7 на основе выравнивания аминокислотных последовательностей [9; 28].

Статистическая обработка данных. Статистическую обработку результатов морфометрического анализа и данных по споровой нагрузке проводили с использованием пакета программ R v. 4.2.1. Рассчитывали средние арифметические значения, стандартные отклонения, минимумы и максимумы для всех количественных признаков. Для определения порогового значения «высокой» споровой нагрузки применяли тест Колмогорова — Смирнова, критический уровень значимости принимали $p < 0,05$. Корреляционный анализ Пирсона проводили между морфометрическими признаками, породной принадлежностью (кодированной как категориальная переменная) и уровнем споровой нагрузки (бинарная переменная после порогового разделения). Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$ [28 — 30].

Результаты и обсуждение

Морфометрическая характеристика исследуемой выборки и оценка породного состава. Результаты морфометрического анализа выявили значительную гетерогенность исследуемой группы пчел, представленную как особями с признаками чистых породных линий, так и разнообразными гибридными формами (табл.).

Длина хоботка варьировала в широких пределах: от 5,80 до 7,20 мм (среднее значение — $6,41 \pm 0,34$ мм), что характерно для популяций с примесью кавказской породы, обладающей наиболее длинным хоботком. Длина переднего крыла находилась в диапазоне 9,16—9,33 мм (среднее — $9,25 \pm 0,05$ мм), ширина крыла — 3,14—3,15 мм (среднее — $3,145 \pm 0,003$ мм), что соответствует типичным размерам для среднерусских и карнийских пчел. Кубитальный индекс, являющийся одним из наиболее стабильных породных признаков, варьировал от 45 до 65 % (среднее — $54,2 \pm 5,8$ %). Низкие значения индекса (45—50 %) характерны для серой горной кавказской породы, средние (50—60 %) — для карнийской, высокие (60 % и более) — для среднерусской. Анализ совокупности морфометрических признаков с использованием кластерного анализа позволил распределить исследованных пчел по породной принадлежности следующим образом: чистые линии не выявлены; доминирующей группой (42 %) оказались гибриды среднерусской и серой горной кавказской пород (*A. m. mellifera* × *A. m. caucasica*); ко второй по численности группе (28 %) относятся гибриды с участием всех трех пород (*sr/c/sgk*); гибриды карнийской и кавказской (*c/sgk*) составили 18 %; гибриды среднерусской и карнийской (*sr/c*) — 12 %. Столь высокий уровень гибридизации типичен для многих пасек европейской части России, особенно в регионах Поволжья, и является следствием длительной и бессистемной интродукции пчелопакетов и плодных маток из различных регионов страны и из-за рубежа, проводившейся на



протяжении многих десятилетий. С точки зрения устойчивости к заболеваниям, гибридные популяции могут демонстрировать как гетерозисный эффект (повышенную жизнеспособность), так и, напротив, повышенную восприимчивость к определенным патогенам из-за нарушения коадаптированных генных комплексов, отвечающих за иммунный ответ.

Морфометрические показатели и споровая нагрузка исследованных пчел (n = 50)

Параметр	Минимум	Максимум	Среднее	Стандартное отклонение
Длина хоботка, мм	5,80	7,20	6,41	0,34
Длина крыла, мм	9,16	9,33	9,25	0,05
Ширина крыла, мм	3,14	3,15	3,145	0,003
Кубитальный индекс, %	45	65	54,2	5,8
Длина голени, мм	2,92	3,10	3,01	0,05
Споровая нагрузка, тыс. спор/пчела	6,7	299	156,3	89,7

146

Интенсивность инвазии и ее взаимосвязь с морфометрическими признаками. Световая микроскопия подтвердила наличие спор, морфологически сходных с *Nosema spp.* (овальной формы, с характерным двойным контуром, размером $4-6 \times 2-3$ мкм), во всех 50 исследованных образцах. Количество спор варьировало в чрезвычайно широких пределах: от $6,7 \times 10^3$ до $2,99 \times 10^5$ спор на одну пчелу (табл.). Такая вариабельность характерна для естественных популяций и отражает индивидуальные различия в стадии инфекционного процесса, возрасте пчел и их физиологическом состоянии. С использованием теста Колмогорова – Смирнова определен статистически обоснованный порог «высокой» споровой нагрузки, составивший $1,5 \times 10^5$ спор на особь ($p < 0,05$). Доля пчел с нагрузкой выше данного порога достигла 44 % (22 особи).

Корреляционный анализ Пирсона выявил слабую, но статистически значимую положительную связь ($r = 0,25$; $p = 0,046$) между принадлежностью пчел к гибридной группе «среднерусская×кавказская» и высокой споровой нагрузкой. Для остальных гибридных групп, а также для количественных морфометрических параметров (длина хоботка, размеры крыла, кубитальный индекс) достоверной корреляции с уровнем инвазии не обнаружено. Выявленная тенденция может указывать на существование различий в восприимчивости к нозематозу или в способности контролировать размножение паразита у разных генетических линий *A. mellifera*. Полученные данные согласуются с результатами зарубежных исследований, демонстрирующих роль генетического фона хозяина в устойчивости к микроспоридиозам [31; 32]. В частности, показано, что линии пчел, селекционированные на гигиеническое поведение, проявляют меньшую восприимчивость к *N. ceranae*. Однако для подтверждения и количественной оценки этого эффекта применительно к *N. apis*



в условиях российской популяции необходим анализ на более репрезентативных выборках с контролем таких факторов, как возраст пчел, условия кормления и происхождение маток.

Гаплотипическое разнообразие *N. apis* по гену РТРЗ. ПЦР-скрининг со специфичными праймерами подтвердил инфицирование всех исследованных пчел видом *N. apis*. Ампликоны ожидаемого размера (321 п. н.) были получены для всех 50 образцов. Секвенирование фрагмента гена РТРЗ и последующий анализ аминокислотных последовательностей позволили идентифицировать два гаплотипа возбудителя, циркулирующих в пределах одного улья. Первый и наиболее распространенный гаплотип (обозначенный как Na-Tat1) был обнаружен у 43 пчел (86 %). Его аминокислотная последовательность оказалась идентичной последовательностям белка РТРЗ, депонированным в GenBank для изолятов *N. apis* из Словении (образец S5-2016), Испании (M50-2015) и Турции (TR3-2017). Этот факт с высокой степенью достоверности свидетельствует о широком географическом распространении данного генетического варианта и его доминировании в евразийских популяциях паразита. Присутствие этого гаплотипа на пасеке в Республике Татарстан может быть объяснено завозом пчелиных маток, пакетов пчел или контаминированной спорами продукции пчеловодства (мед, перга, воск) из других регионов или стран. Импорт пчел и пчелопродукции из европейских стран создает потенциальные каналы для заноса различных генотипов патогенов. Кроме того, внутри страны существует интенсивный обмен пчелами между южными и северными регионами, что также способствует распространению паразитов [9].

Второй гаплотип (обозначенный как Na-Tat2), обнаруженный у 7 пчел (14 %), является новым, ранее не описанным в международных базах данных. Его отличие от основного гаплотипа заключается в единичной несинонимичной нуклеотидной замене, приводящей к аминокислотной замене: в позиции, предположительно соответствующей 112-му кодону зрелого белка (по выравниванию с референсной последовательностью), пролин (Pro, неполярная гидрофобная аминокислота) заменен на лейцин (Leu, также неполярная гидрофобная аминокислота). Замена Pro112Leu относится к классу консервативных замен, поскольку обе аминокислоты обладают сходными физико-химическими свойствами. Тем не менее пролин уникален тем, что его циклическая структура создает жесткий излом в полипептидной цепи и часто встречается в местах поворотов, играя важную роль в формировании третичной структуры белка. Замена пролина на лейцин может теоретически повлиять на локальную конформацию белка РТРЗ и, как следствие, на его взаимодействие с другими компонентами полярной трубки или с рецепторами клеток хозяина.

Выявление уникального гаплотипа на локальном уровне может быть следствием нескольких, не исключających друг друга, процессов: (1) локальной мутации (генетического дрейфа) и последующей эволюции паразита в относительно изолированной популяции (эффект основателя); (2) заноса данного варианта из необследованного ранее географического источника (например, из Азии); (3) результата рекомбинации между разными штаммами при смешанной инфекции.



Для проверки этих гипотез необходимы дальнейшие исследования с привлечением большего числа проб из различных географических локаций Поволжья, Урала и других регионов России, а также секвенирование более протяженных участков генома *N. apis*, включая другие переменные локусы (например, ген *PTP1*, *PTP2*, *PGRP-S1*, *TOLL*, *LYS-2* и *IAP-2* [10; 13; 16; 33; 34]). Функциональное значение выявленной аминокислотной замены для биологии паразита, его вирулентности и трансмиссивности также остается предметом будущих исследований.

Можно предположить, что различия в структуре РТРЗ способны влиять на эффективность экстрюзии полярной трубки, скорость прорастания спор в кишечнике или устойчивость к факторам иммунной системы хозяина. Присутствие в одном улье двух генетически различных вариантов *N. apis* указывает на возможность множественных заносов инфекции или на циркуляцию в популяции смешанных штаммов. Это поднимает важный вопрос о конкуренции между гаплотипами, их динамике во времени и потенциальном влиянии на эпизоотический процесс. Долговременный мониторинг данной пасеки позволит проследить, произойдет ли вытеснение одного гаплотипа другим (например, более вирулентным) или они будут сосуществовать в состоянии равновесия.

Таким образом, полученные результаты демонстрируют, что популяция *N. apis* даже в микрогеографическом масштабе (в пределах одного улья) может быть гетерогенной и включать как широко распространенные космополитные генотипы, так и локальные эндемичные варианты. Это подчеркивает необходимость тонкого молекулярно-эпидемиологического мониторинга для понимания путей распространения инфекции и разработки эффективных мер борьбы, включая селекцию устойчивых линий пчел и контроль перемещений пчелопродукции.

Заключение

Проведенное комплексное исследование позволило впервые для территории Республики Татарстан охарактеризовать генетическую структуру популяции микроспоридии *Nosema apis* — возбудителя нозематоза медоносных пчел — на основе анализа полиморфизма гена белка полярной трубки РТРЗ. Установлено, что популяция паразита на обследованной пасеке гетерогенна и представлена двумя аминокислотными гаплотипами. Один из них (Na-Tat1) является типичным для Евразии и встречается в популяциях паразита от Пиренейского полуострова до Малой Азии, что подтверждает его широкое распространение и, вероятно, древнее происхождение. Его присутствие в Татарстане — убедительное свидетельство заноса данного генотипа на территорию Российской Федерации, наиболее вероятно, в результате хозяйственной деятельности человека — международной и межрегиональной торговли пчелами и продукцией пчеловодства.

Второй выявленный гаплотип (Na-Tat2) является новым, уникальным для настоящего исследования и отличается от основного единичной консервативной аминокислотной заменой Pro112Leu. Это указывает на существование локальных эволюционных процессов в популяции паразита, которые могут быть связаны с адаптацией к местным услови-



ям или к генетическим особенностям популяции пчел-хозяев. Данный факт расширяет существующие представления о внутривидовом разнообразии *N. apis* и подчеркивает необходимость дальнейшего популяционно-генетического мониторинга на более обширных территориях.

Выявленная корреляция ($r=0,25$) между высокой интенсивностью инвазии и принадлежностью пчел к гибридной группе «среднерусская × кавказская» указывает на потенциальную роль генотипа хозяина в контроле численности паразита. Несмотря на слабый характер связи, этот результат согласуется с данными мировой литературы о генетической обусловленности устойчивости пчел к нозематозу и актуализирует важность селекционной работы, направленной на сохранение чистопородных генофондов и повышение резистентности пчелиных семей к инвазионным заболеваниям.

В практическом аспекте полученные результаты обосновывают необходимость усиления ветеринарно-санитарного контроля за перемещениями пчелопродукции как на государственных границах, так и внутри страны, а также разработки и внедрения методов молекулярной диагностики, позволяющих не только идентифицировать вид возбудителя, но и типировать его штаммы для отслеживания эпизоотических цепочек. Дальнейшие исследования должны быть направлены на расширение географии проб, анализ сезонной динамики гаплотипического состава, а также на изучение функциональных последствий выявленной аминокислотной замены для биологии паразита и патогенеза нозематоза.

Список литературы

1. Третьякова А.Б., Шамаев Н.Д. Системы мониторинга технологий и оптимизация ухода в современном пчеловодстве // Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии: сборник научных трудов. 2025. №123. С. 92–97. doi: 10.31016/vet.san.2025-123-17. EDN: RVRCAZ.
2. Шамаев Н.Д. Методы биотехнологии в изучении экологии и биогеографии медоносной пчелы и решении проблем интенсификации пчеловодства // Пчеловодство и апитерапия: актуальные вопросы, достижения и инновации : материалы Международ. науч.-практ. конф., Рыбное, 15–16 декабря 2023 г. Рыбное, 2024. С. 194–198. EDN: ISBLYO.
3. Шамаев Н.Д., Шуралев Э.А., Мукминов М.Н. Эффективность использования *Apis Mellifera* в паразитологических исследованиях *in vitro* // XI Международная конференция молодых ученых: биоинформатиков, биотехнологов, биофизиков, вирусологов, молекулярных биологов и специалистов фундаментальной медицины : сб. тез., Научоград Кольцово, 24–27 сентября 2024 г. Новосибирск, 2024. С. 242–243. doi: 10.25205/978-5-4437-1691-6-118. EDN: IVDPGF.
4. Половинка Н.С., Шамаев Н.Д., Мукминов М.Н. Оценка связи между уровнем превалентности микроспориidioзов вызванных родом *Nosema* и практиками содержания *Apis mellifera* // Белые цветы : сб. тез. XII Междунар. молодежного науч. мед. форума, посвященного 80-летию победы в Великой Отечественной войне, Казань, 9–11 апреля 2025 г. Казань, 2025. С. 1455–1456. EDN: GLRTVE.



5. Shamaev N., Shuralev E., Nikitin O., Mukminov M. Beekeeping practice-related factors that impact nosemosis prevalence in honey bees in the Republic of Tatarstan, Russia // Ankara Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi. 2025. Vol. 72, №3. P. 365–376. doi: 10.33988/auvfd.1594759. EDN: KLRLON.

6. Шамаев Н.Д., Шуралев Э.А., Мукминов М.Н. Распределение гаплотипов *Nosema apis* в условиях единичной пасеки Республики Татарстан // Вестник Рязанского государственного агротехнологического университета им. П.А. Костычева. 2024. Т. 16, №3. С. 92–101. doi: 10.36508/RSATU.2024.11.32.013. EDN: RFWYWM.

7. Shamaev N.D., Salnikov V.V., Yuzmanova L.A., Shuralev E.A., Mukminov M.N. Regular occurrence of atypically small spores in *Apis mellifera carnica* (Hymenoptera: Apidae), naturally infected with *Nosema* spp. (Microsporidia) // Invertebrate Zoology. 2024 Vol. 21, №4. P. 478–486. doi: 10.15298/invertzool.21.4.03. EDN: CYMNHU.

8. Шамаев Н.Д., Камбале Э.М., Валиахметов Д.И. и др. Биоразнообразие геноваров *Nosema ceranae* в популяции *Apis mellifera* с гибридными признаками в условиях // Российский журнал «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии». 2024. №4 (52). С. 597–605. doi: 10.36871/vet.san.hyг.ecol.202404016. EDN: CFGQFZ.

9. Salnikov V.V., Yuzmanova L.A. et al. Regular occurrence of atypically small spores in *Apis mellifera carnica* (Hymenoptera: Apidae), naturally infected with *Nosema* spp. (Microsporidia) // Invertebrate Zoology. 2024. Vol. 21, №4 P. 478–486. doi: 10.15298/invertzool.21.4.03. EDN: CYMNHU.

10. Мукминов М.Н., Шуралев Э.А., Казарян Г.Г., Шамаев Н.Д. Микроспоридии, ассоциированные с инфекциями медоносных пчел // Пчеловодство и апитерапия: актуальные вопросы, достижения и инновации : материалы Междунар. науч.-практ. конф., Рыбное, 15–16 декабря 2023 г. Рыбное, 2024. С. 113–118. EDN: CEIONM.

11. Sidorova A.E., Shamaev N.D. Observations of r-type *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) collected from local *Apis mellifera* apiary // Актуальные проблемы экологии и природопользования : сб. науч. тр. XXVI Междунар. науч.-практ. конф. : 3 т. М., 2025. С. 41–46. EDN: WIPASK.

12. Mukminov M.N., Shuralev E.A., Shamaev N.D. *Nosema* spp parasite and a component of pathogen recognition sequence variant numbers relationship in the *Apis mellifera* host subspecies across local apiaries // Актуальные проблемы экологии и природопользования : сб. науч. тр. XXVI Междунар. науч.-практ. конф. : в 3 т. Москва, 2025. С. 32–36. EDN: HUPVSE.

13. Шамаев Н.Д., Шуралев Э.А., Мукминов М.Н. Территориальные и видовые закономерности геновар-специфических комбинаций у пчел и их паразитов // Российский журнал «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии». 2025. №2 (54). С. 271–277. doi: 10.36871/vet.san.hyг.ecol.202502013. EDN: KKNYZJ.

14. Шамаев Н.Д., Третьякова А.Б., Камбале Э.М. и др. Индикация и идентификация патогена *Melissococcus plutonius* с использованием экзогенной ДНК, выделенной из объектов ветеринарного надзора // Российский журнал «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии». 2025. №1 (53). С. 81–87. doi: 10.36871/vet.san.hyг.ecol.202501010. EDN: CMBACJ.



15. Шамаев Н.Д., Шуралев Э.А., Мукминов М.Н. Идентификация *Acarapis woodi* и *Varroa destructor* у *Apis mellifera* с использованием экзогенной ДНК ульевого мусора // Вестник КрасГАУ. 2025. №11 (224). С. 120–133. doi: 10.36718/1819-4036-2025-11-120-133. EDN: TBGWDW.

16. Шамаев Н.Д., Третьякова А.Б., Камбале Э.М. и др. Индикация патогенов медоносной пчелы с использованием экзогенной ДНК и выявление взаимосвязи между геноварами паразита и хозяина на отдельных пасеках Республики Татарстан // Экологическая безопасность и сохранение генетических ресурсов растений и животных России и сопредельных территорий : материалы XV Всерос. науч. конф. с междунар. участием, Владикавказ, 18–23 мая 2025 г. Владикавказ 2025. С. 352–356. EDN: OJWMUX.

17. Салихов Д.Г., Петров С.В., Шамаев Н.Д. и др. Оценка загрязнения почв тяжелыми металлами в биогеохимических провинциях Республики Татарстан // Journal of Agriculture and Environment. 2023. №8 (36). doi: 10.23649/JAE.2023.36.8. EDN: LNCFBW.

18. Шамаев Н.Д., Сальников В.В., Кошпаева Е.С., Сычев К.В. Увеличение заболеваемости нозематозом вблизи экологического стрессора // XI Международная конференция молодых ученых: биоинформатиков, биотехнологов, биофизиков, вирусологов, молекулярных биологов и специалистов фундаментальной медицины : сб. тез., Научград Кольцово, 24–27 сентября 2024 г. Новосибирск, 2024. С. 569–570. doi: 10.25205/978-5-4437-1691-6-280. EDN: GMWPVA.

19. Шамаев Н.Д., Кошпаева Е.С., Сычев К.В., Иванов А.В. Молекулярная фитотерапия и применение пищевых добавок, направленные на борьбу с ваириморфозом у медоносных пчел // Пчеловодство и апитерапия: актуальные вопросы, достижения и инновации : материалы Междунар. науч.-практ. конф., Рыбное, 15–16 декабря 2023 г. Рыбное, 2024. С. 198–204. EDN: NASOBM.

20. Третьякова А.Б., Мукминов М.Н., Шамаев Н.Д. Оценка острой контактной токсичности имидаклоприда и тиаклоприда в отношении медоносных пчел: сравнительный анализ влияния на выживаемость и поведенческую активность // Вестник Балтийского федерального университета им. И. Канта. Сер.: Естественные науки. 2025. №4. С. 133–146. doi: 10.5922/vestniknat-2025-4-9. EDN: YPTTGO.

21. Третьякова А.Б., Мукминов М.Н., Шамаев Н.Д. Неоникотиноиды и их воздействие на медоносных пчел: сравнительный анализ острой пероральной токсичности имидаклоприда и тиаклоприда // Вестник Балтийского федерального университета им. И. Канта. Сер.: Естественные науки. 2026. №1. С. 54–69. doi: 10.5922/vestniknat-2026-1-4. EDN: HPCNOS.

22. Половинка Н.С., Шамаев Н.Д., Мукминов М.Н. Оценка связи между уровнем превалентности микроспориidioзов вызванных родом *Nosema* и практиками содержания *Apis mellifera* // Белые цветы : сб. тез. XII Междунар. молодежного науч. мед. форума, посвященного 80-летию победы в Великой Отечественной войне, Казань, 9–11 апреля 2025 г. Казань, 2025. С. 1455–1456. EDN: GLRTVE.

23. Kambale E. M., Hasbieva D. R. et al. A scientific note on the prevalence of *Nosema* spp. in honey bee colonies in relation to the proximity of mining regions and levels of heavy metal contamination // Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal. 2026. Vol. 32 (1-2). P. 279–294. doi: 10.1080/10807039.2026.2614355.



24. vanEngelsdorp D., Meixner M.D. A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them // Journal of Invertebrate Pathology. 2010. Vol. 103, suppl. 1. P. S80–S95. doi: 10.1016/j.jip.2009.06.011.

25. Goulson D., Nicholls E., Botías C., Rotheray E.L. Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers // Science. 2015. Vol. 347, iss. 6229. doi: 10.1126/science.1255957.

26. Shamaev N.D., Shuralev E.A., Nikitin O.V. et al. Prevalence of *Toxoplasma gondii* infection among small mammals in Tatarstan, Russian Federation // Scientific Reports. 2021. Vol. 11, №1. doi: 10.1038/s41598-021-01582-y. EDN: UBGGQQ.

27. Шамаев Н.Д., Шуралев Э.А., Ефимова М.А. Анализ и документирование гелей и мембран в программном обеспечении «Image Lab» при электрофорезе и блоттинге : учеб.-метод. пособие. Казань, 2021. EDN: ТТТJAW.

28. Shamaev N.D., Batanova T., Iwatake Yu. et al. Diversity of genes encoding immune-related GTPase B2 protein, an inherited element responsible for resistance against virulent *Toxoplasma gondii* strains, among wild *Mus musculus* in local area of Japan // Journal of Veterinary Medical Science. 2024. Vol. 86, №10. P. 1056–1062. doi: 10.1292/jvms.24-0059. EDN: DTVOJW.

29. Shamaev N.D., Shuralev E.A., Petrov S.V. et al. Seroprevalence and B1 gene genotyping of *Toxoplasma gondii* in farmed European mink in the Republic of Tatarstan, Russia // Parasitology International. 2020. Vol. 76. P. 102067. doi: 10.1016/j.parint.2020.102067. EDN: TOFJHJ.

30. Mutinelli F. The spread of pathogens through trade in honey bees and their products (including queen bees and semen): overview and recent developments // Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics). 2011. Vol. 30, №1. P. 257–271. doi: 10.20506/rst.30.1.2033.

31. Graystock P., Goulson D., Hughes W.O.H. Parasites in bloom: flowers aid dispersal and transmission of pollinator parasites within and between bee species // Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. 2015. Vol. 282, №1813. P. 20151371. doi: 10.1098/rspb.2015.1371.

32. Mukminov M.N., Shuralev E.A., Shamaev N.D. *Nosema spp* parasite and a component of pathogen recognition sequence variant numbers relationship in the *Apis mellifera* host subspecies across local apiaries // Актуальные проблемы экологии и природопользования : сб. науч. тр. XXVI Междунар. науч.-практ. конф. : в 3 т. Москва, 2025. С. 32–36. EDN: HUPVSE.

33. Шамаев Н.Д., Мукминов М.Н., Шуралев Э.А. Диапазон комбинаций гаплотипов *Nosema spp.* и вариантов последовательностей генов *Apis mellifera* на отдельных пасеках Республики Татарстан // Современные проблемы естествознания и естественно-научного образования : материалы II Всерос. науч.-практ. конф., Калуга, 18 марта 2025 г. Калуга, 2025. С. 314–315. EDN: GUVGPH.

Об авторах

Анна Дмитриевна Севастьянова – магистрант, Казанский (Приволжский) федеральный университет, Россия.

ORCID: 0009-0005-4465-9338

E-mail: mmakuule@gmail.com



Малик Нилович Мукминов — д-р биол. наук, проф., Казанский (Приволжский) федеральный университет, Россия.

ORCID: 0000-0002-5996-0271

E-mail: malik-bee@mail.ru

A. D. Sevastianova, M. N. Mukminov

GENETIC VARIABILITY AND PHYLOGEOGRAPHIC RELATIONS OF NOSEMA APIS AT THE APIARY LEVEL

Kazan (Volga Region) Federal University, Russia

Received 15 February 2026

Accepted 30 March 2026

doi: 10.5922/vestniknat-2026-2-10

153

To cite this article: Sevastianova A. D., Mukminov M. N., 2026, Genetic variability and phylogeographic relations of *Nosema Apis* at the apiary level, *Vestnik of Immanuel Kant Baltic Federal University. Series: Natural and Medical Sciences*, №2. P. 139–153. doi: 10.5922/vestniknat-2026-2-10.

The results of a comprehensive analysis of the genetic diversity of the microsporidian Nosema apis, the causative agent of nosemosis in honey bees (Apis mellifera), are presented using the example of a single apiary located in the Laishevsky District of the Republic of Tatarstan. Identification of the haplotypic composition of the pathogen and assessment of its phylogeographic relationships with Eurasian isolates were carried out based on the polymorphism of the polar tube protein gene PTP3. It was established that all examined bees were infected with N. apis. Sequencing and subsequent cloning of heterozygous samples revealed the presence of two amino acid variants of the PTP3 protein within a single hive. One of them completely coincided with the dominant Eurasian haplotype previously described in parasite populations from Slovenia, Spain, and Turkey. The second variant is unique to the present study and differs from the main variant by a single nonsynonymous substitution (leucine instead of proline at the position presumably corresponding to codon 112 of the protein). A weak positive correlation was identified between high invasion intensity (spore load > 150 thousand spores) and the belonging of bees to hybrid forms involving the Central Russian and Grey Mountain Caucasian breeds ($r=0.25$; $p<0.05$).

Keywords: *Nosema apis*, *Apis mellifera*, nosematosis, haplotype, phylogeography, bee morphometry, genetic polymorphism, correlation analysis

The authors

Anna D. Sevastianova, Master student, Kazan (Volga Region) Federal University, Russia.

ORCID: 0009-0005-4465-9338

E-mail: mmakuule@gmail.com

Prof. Malik N. Mukminov, Kazan (Volga Region) Federal University, Russia.

ORCID: 0000-0002-5996-0271

E-mail: malik-bee@mail.ru