

Научная статья
УДК 638.1/574.3:57.065:577.29
doi: 10.36871/vet.san.hyг.ecol.202404016
EDN: CFGQFZ

БИОРАЗНООБРАЗИЕ ГЕНОВАРОВ *NOSEMA CERANAE* В ПОПУЛЯЦИИ *APIS MELLIFERA* С ГИБРИДНЫМИ ПРИЗНАКАМИ В УСЛОВИЯХ ПАСЕКИ

Николай Дмитриевич Шамаев¹, Эфрем Мулилавийо Камбале², Динар Илдарович Валиахметов³,
Анна Дмитриевна Севастьянова⁴, Эдуард Аркадьевич Шуралев⁵, Малик Нилович Мукминов⁶

^{1,2,3,4,5,6} Казанский (Приволжский) федеральный университет,
Казань 420008, Республика Татарстан, Российская Федерация

^{1,5,6} Казанская государственная медицинская академия — филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава
России, Казань 420012, Республика Татарстан, Российская Федерация

¹ Казанский государственный медицинский университет Минздрава России,
Казань 420012, Республика Татарстан, Российская Федерация

⁵ Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана,
Казань 420029, Республика Татарстан, Российская Федерация

¹ nikolay1157@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-0575-3760>

² muliwavyoephraim@gmail.com

³ valiahmetovdi@gmail.com

⁴ sevastyanova04@yandex.ru

⁵ eduard.shuralev@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-0650-3090>

⁶ malik-bee@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-5996-0271>

Аннотация. Проведен морфометрический анализ с оценкой экстерьерных показателей пчел для выявления связи с нагрузкой спорами микроспоридий рода *Nosema*. Изучены геновары из разных геоклиматических регионов Евразии, включая Республику Татарстан, с целью установить тенденцию заражения различными гаплотипами паразитов. Дана характеристика генетического разнообразия «азиатской» линии микроспоридии *Nosema ceranae* в популяции медоносной пчелы *Apis mellifera* на пасеке в Республике Татарстан с последующей интерпретацией полученных данных на фоне имеющихся геноваров Евразии. Данная линия была обнаружена у 39 медоносных пчел в улье на пасеке. На основании медианного графа из аминокислотных последовательностей белка *PTP3* было выявлено два типа геноваров *N. ceranae*. Первый тип был идентичен основным геноварам, обнаруженным в Нидерландах, Таиланде, Хорватии и Испании. Второй тип отличался от геноваров из Словении, Таиланда, Нидерландов и Южной Кореи только одной или двумя аминокислотами и имел специфические аминокислотные последовательности. Данные аминокислотной последовательности белка *PTP3* с пасеки Республики Татарстан и других регионов Евразии позволяют предположить, что возбудитель «азиатского» нозематоза у медоносных пчел, вызванного *N. ceranae*, имеет как общие основные, так и специфические геновары. Линейной связи между геноваром белка *PTP3* и геоклиматическим регионом обнаружено не было. Необходимо исследовать генетические различия микроспоридии и устойчивость к «азиатскому» нозематозу, а также генетические вариации у медоносных пчел разных линий, что позволит детерминировать нарушение эволюционно сложившегося генетического комплекса и генетический дисбаланс.

Ключевые слова: *Nosema ceranae*, белок *PTP3*, медианный граф, «азиатский» нозематоз, *Apis mellifera carnica*

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-26-00079, <https://rscf.ru/project/24-26-00079/>.

Для цитирования: Шамаев Н.Д., Камбале Э.М., Валиахметов Д.И., Севастьянова А.Д., Шуралев Э.А., Мукминов М.Н. Биоразнообразие геноваров *Nosema ceranae* в популяции *Apis mellifera* с гибридными признаками в условиях пасеки // Российский журнал «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии». 2024. №4 (52). С. 597–605.

doi: 10.36871/vet.san.hyг.ecol.202404016

EDN: CFGQFZ

Original article

NOSEMA CERANAE GENETIC VARIANTS BIODIVERSITY IN A POPULATION OF APIS MELLIFERA WITH HYBRID TRAITS UNDER APIARY CONDITIONS

*Nikolai D. Shamaev¹, Ephraim M. Kambale², Dinar I. Valiakhmetov³,
Anna D. Sevastyanova⁴, Eduard A. Shuralev⁵, Malik N. Mukminov⁶*

^{1,2,3,4,5,6} Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan 420008, Republic of Tatarstan, Russian Federation

^{1,5,6} Kazan State Medical Academy — branch of the Federal State Budgetary Educational Institution
of Further Professional Education RMANPO of the Ministry of Health of Russia,
Kazan 420012, Republic of Tatarstan, Russian Federation

¹ Kazan State Medical University, Kazan 420012, Republic of Tatarstan, Russian Federation

⁵ Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman,
Kazan 420029, Republic of Tatarstan, Russian Federation

¹ nikolay1157@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-0575-3760>

² muliwavyoephraim@gmail.com

³ valiahmetovdi@gmail.com

⁴ sevastyanova04@yandex.ru

⁵ eduard.shuralev@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-0650-3090>

⁶ malik-bee@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-5996-0271>

Abstract. A morphometric analysis was conducted to assess the external indicators of honey bees and identify any correlation with the spore load of microsporidia belonging to the genus *Nosema*. Genovars from various geoclimatic regions of Eurasia, including the Republic of Tatarstan, were examined to determine the pattern of infection by different haplotypes of parasites. The genetic diversity characteristics of the «Asian» lineage of microsporidia *Nosema ceranae* in the honey bee *Apis mellifera* population in an apiary in the Republic of Tatarstan are presented, along with an interpretation of the data in comparison to the existing genovars in Eurasia. This line was found in 39 honey bees in an apiary hive. Based on the median graph of the amino acid sequences of the *PTP3* protein, two types of *N. ceranae* genovars were identified. The first type was identical to the main genovars found in the Netherlands, Thailand, Croatia, and Spain. The second type differed from genovars from Slovenia, Thailand, the Netherlands, and South Korea in only one or two amino acids and had specific amino acid sequences. Data from the amino acid sequence of the *PTP3* protein from an apiary in the Republic of Tatarstan and other regions of Eurasia suggest that the causative agent of «Asian» nosemosis in honey bees, caused by *N. ceranae*, has both common basic and specific genovars. No linear relationship was found between *PTP3* protein genovars and geoclimatic regions. It is necessary to study genetic differences in microsporidia and resistance to «Asian» nosemosis, as well as genetic variations in honey bees of different lines. This research will help determine the disruption of the evolutionarily established genetic complex and genetic balance.

Keywords: *Nosema ceranae*, *PTP3* protein, median graph, «Asian» nosematosis, *Apis mellifera carnica*

Financing. The research was carried out at the expense of a grant from the Russian Science Foundation №24-26-00079, <https://rscf.ru/project/24-26-00079/>.

For citation: Shamaev N.D., Kambale E.M., Valiakhmetov D.I., Sevastyanova A.D., Shuralev E.A., Mukminov M.N. *Nosema ceranae* genetic variants biodiversity in a population of *Apis mellifera* with hybrid traits under apiary conditions // Russian Journal «Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology». 2024. №4 (52). P. 597–605 (In Russ.).

doi: 10.36871/vet.san.hygiene.ecol.202404016

EDN: CFGQFZ

Введение

Наличие и пагубное действие биотических и абиотических факторов влияет на семьи медоносных пчел. В роли этих факторов выступают инфекционные и инвазионные агенты; применение пестицидов при выращивании сельскохозяйственных энтомофильных культур, опыляемых пчелами; факторы, связанные с землепользованием и изменением климата [1, 2]. Для того чтобы заниматься промышленным пчеловодством, необходимо содержать значительное число пчелиных семей, однако распространение биопатогенов среди медоносных пчел приводит к сокращению пчелосемей [3...5]. В связи с глобальным распространением микроспоридии семейства *Nosematidae* оказывают пагубное воздействие на медоносных пчел *Apis mellifera* [3, 6, 7]. *N. ceranae*, впервые выявленная в семьях азиатских медоносных пчел (*A. ceranae*), в настоящее время широко распространена далеко за пределы Азии [5, 6]. Известно, что генетическая гетерогенность пчелы может влиять на выживаемость при заражении различными геноварами вида *N. ceranae* [9]. Поэтому при анализе паразито-хозяйинных взаимоотношений необходимо изучать существующие основные и новые геновары вида *N. ceranae*, что в дальнейшем позволит выявить причины возникновения восприимчивости к «азиатскому» нозематозу. Высокие уровни генетической изменчивости белка *PTP3* ранее были документированы для глобально распространенного вида *N. ceranae* [9, 10].

Основной целью данного исследования был анализ распределения геноваров паразита по Евразии с использованием международных баз данных и сбор данных в популяции медоносной пчелы *Apis mellifera* на пасеках Республики Татарстан, где ежегодно выявляют нозематоз [11].

Материалы и методы

В апреле 2023 г. рабочие пчелы были отобраны из одного улья, на пасеке, расположенной в Верхнеуслонском районе Республики Татарстан. Отобранных пчел подвергали морфометрическому анализу для определения экстерьерных показателей (хоботок, длина и ширина крыла, кубитальный индекс) согласно общепринятой методике [12].

Параллельно с проведением морфометрического анализа каждое насекомое подвергали исследованию на нозематоз, для чего пчелу промывали стерильной водой, извлекали среднюю кишку, помещали в ступку, добавляли 1 мл стерильной воды и тщательно растирали пестиком. Каплю гомогената добавляли в гемоцитометр Neubauer (Paul Marienfeld GmbH & Co. KG, Германия) и оценивали общее число спор на пять больших квадратов. Полученное число было умножено на 50 000. Подсчет споровой нагрузки и оценку размера спор проводили с помощью составного микроскопа («Биомед-3», Российская Федерация) при 400- и 1000-кратном увеличении.

Пчелы, зараженные нозематозом, были использованы для экстракции ДНК, ПЦР-анализа с амплификацией фрагментов длиной 321 и 218 п.н., соответствующих рибосомному гену 16S. Чтобы выяснить, могут ли существовать генетические вариации в популяциях *N. ceranae*, мы провели генетическое исследование для выявления генных вариаций данных микроспоридий [14]. Для этого мы выбрали белок полярной трубки *PTP3*. *N. ceranae* и другие микроспоридии имеют полярные нити, состоящие из трех ключевых компонентов: *PTP1*, *PTP2* и *PTP3*. Однокопийный ген *Ptp3*, кодирующий этот белок, содержит 1414 аминокислот. Его структура играет уникальную и решающую роль в механизме заражения, облегчая инъекцию спороплазмы в клетку-хозяина после ее выброса через передний полюс инфекционной споры. Нуклеотидные последовательности амплифицированных фрагментов определяли в научно-исследовательской компании «Синтол» (Россия). Аллели разделяли с помощью вектора pT7Blue с трансформацией в клеточную линию *E. coli* DH5a.

Аминокислотные последовательности белка *PTP3*, полученные из зараженных микроспоридиями *A. mellifera* пчел в различных частях мира (Нидерланды, Испания, Греция, Хорватия, Словения, Венгрия, Таиланд, Тайвань и Южная Корея), были выгружены из научной базы данных. Медианный граф для полиморфных участков аминокислотных последовательностей белка *PTP3* из Республики Татарстан и других точек отбора проб *A. mellifera* оценивали с использованием

участков с высоким уровнем полиморфизма аминокислот с добавлением обозначений.

Корреляционный анализ проводили с использованием теста Пирсона, R-знаковый тест и линейная регрессия проводились с использованием статистического программного обеспечения для Excel (<https://www.xlstat.com>).

Результаты исследований и обсуждение

При проведении морфометрического анализа были получены следующие результаты: длина хоботка варьировалась от 6,37 до 6,99 мм; длина крыла — от 9,33 до 9,60 мм; ширина крыла — от 3,14 до 3,16 мм; кубитальный индекс — от 45 до 65%.

Полученные результаты позволяют отнести исследуемых пчел к гибриду среднерусской породы.

Наличие спор в средней кишке пчел было определено посредством микроскопии (рис. 1).

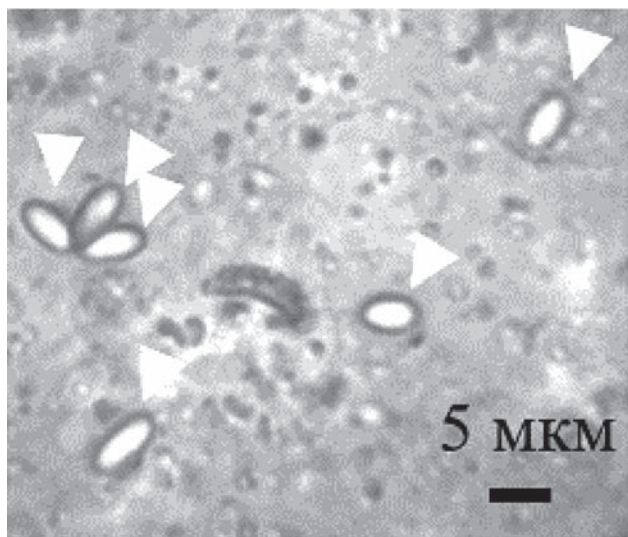


Рис. 1. Световая микроскопия спор, схожих с таковыми *N. ceranae*. Белые стрелки — *N. ceranae*.
Fig. 1. Light microscopy of spores similar to *N. ceranae*. White arrows — *N. ceranae*

ПЦР-скрининг выявил доминирующее количество ДНК микроспоридий *N. ceranae* и небольшое количество ДНК микроспоридий *N. apis* в исследуемых образцах (рис. 2).

По итогам ПЦР-скрининга, 39 медоносных пчел с пасеки, расположенной в Верхнеуслонском районе Республики Татарстан, было установлено, что основной возбудитель нозематоза пчел — *N. ceranae*.

По результатам построения корреляционной матрицы Пирсона была выявлена слабая положительная корреляция между споровой нагрузкой и кубитальным индексом (рис. 3).

Значения кубитальных индексов по обнаруженному подвиду были переведены в бинарные переменные с последующим построением корреляционной матрицы Пирсона для определения корреляции со споровой нагрузкой (рис. 4).

По результатам построения корреляционной матрицы Пирсона была выявлена слабая положительная корреляция между споровой нагрузкой и кубитальным индексом гибрида среднерусской породы медоносной пчелы.

Ампликоны образцов пчел, зараженных «азиатским нозематозом», были секвенированы с использованием гена *Ptp3*. Известно, что белки полярной трубки взаимодействуют с поверхностью клетки медоносной пчелы. *PTP3* участвует в регуляции экструзии полярных трубок и в биогенезе [13]. Чтобы увидеть функционально отдельные геновары *N. ceranae*, имеет смысл отобразить на медианном графе полученные последовательности аминокислот белка *PTP3*, где собраны все имеющиеся в международных базах данных геновары. Нами было выявлено два типа геноваров *N. ceranae*, сформированных из аминокислотных последовательностей белка *PTP3* на медианном графе. Один тип различался



Рис. 2. ПЦР-скрининг отдельных образцов *A. mellifera*. Образцы слева направо показывают наличие *N. ceranae*. Полосы длиной 218 п.н. позволили идентифицировать вид *N. ceranae*. Также присутствуют полосы длиной 321 п.н., принадлежащие *N. apis*

Fig. 2. PCR screening of individual *A. mellifera* samples. Samples from left to right show the presence of *N. ceranae*. 218 bp bands allowed the identification of the *N. ceranae* species. There are 321 bp bands also present, belonging to *N. apis*

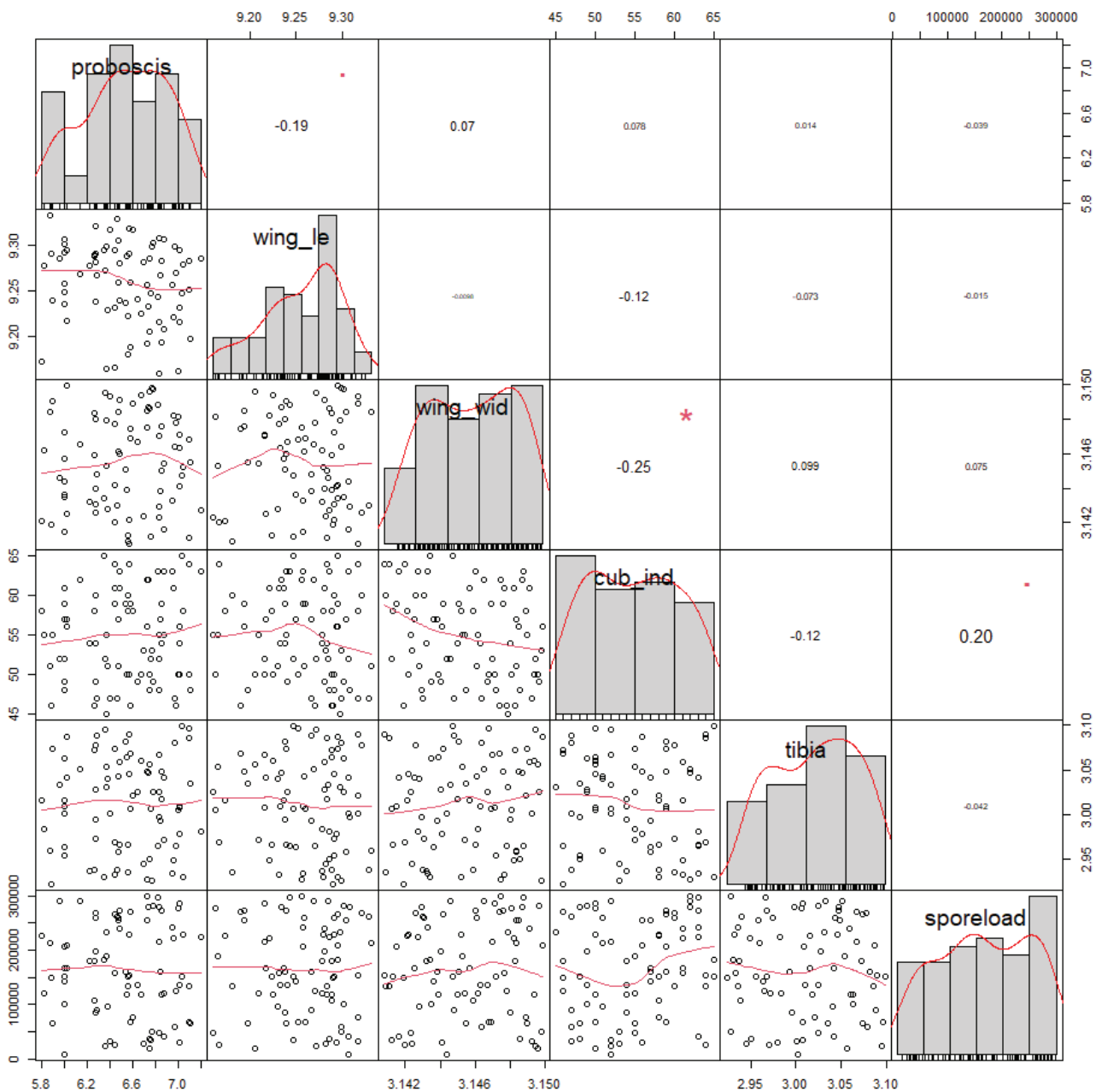


Рис. 3. Корреляционная матрица Пирсона с использованием морфометрических показателей и споровой нагрузки медоносных пчел

Fig. 3. Pearson correlation matrix using morphometric parameters and spore load of honey bees

только одной или двумя аминокислотами, являясь специфической последовательностью, отличающейся от основных геноваров, найденных в Словении, Таиланде, Нидерландах и Южной Корее. Второй тип был идентичен основным геноварам, обнаруженным в Нидерландах, Таиланде, Хорватии и Испании (рис. 4). Каждый из четырех встреченных типов подвидов пчел был

заражен каждым из двух геноваров *N. ceranae*. Статистически достоверной связи с типами подвидов обнаружено не было.

Геновары *N. ceranae* с дивергентной аминокислотной последовательностью белка *PTP3* присутствовали в странах разных геоклиматических регионов: умеренного (Республика Татарстан, Словения, Венгрия, Хорватия, Нидерланды),

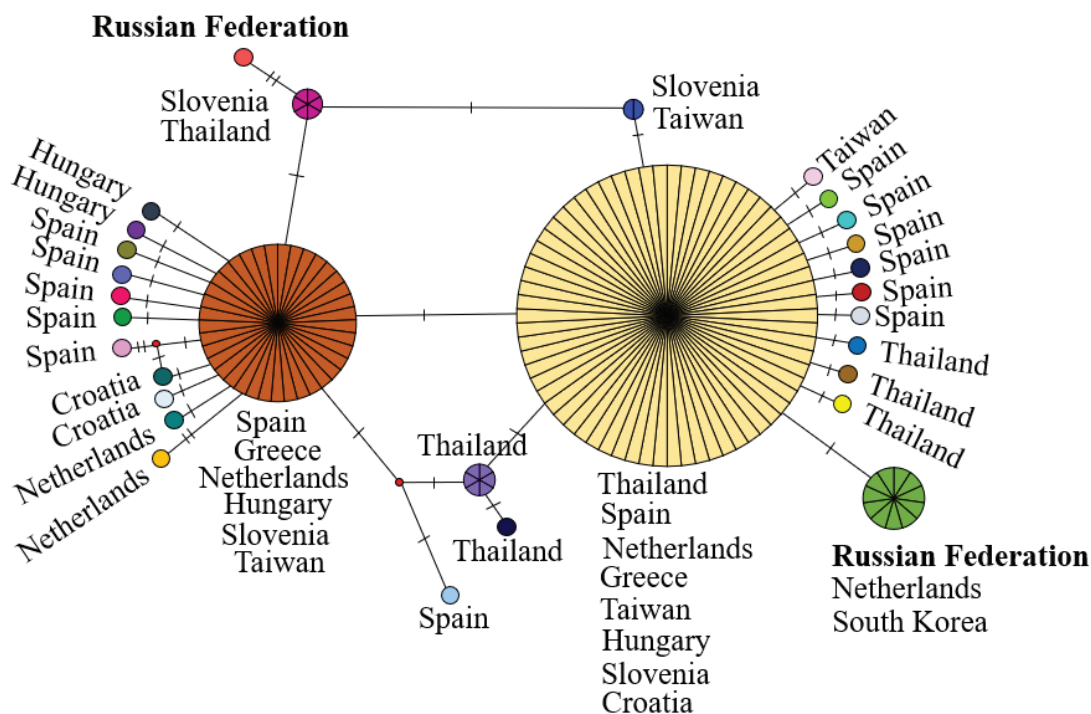


Рис. 4. Медианный граф, построенный с использованием аминокислотных последовательностей белка *PTP3 N. ceranae*. Жирным шрифтом выделены геновары, обнаруженные на пасеке в Республике Татарстан
 Fig.4. Median graph constructed using amino acid sequences of the *N. ceranae* *PTP3* protein. The genovars found in an apiary in the Republic of Tatarstan are highlighted in bold

субтропического (Испания, Греция) и субэкваториального (Тайвань, Таиланд). Оценка климатического фактора, влияющего на распределение гаплотипов *N. ceranae* в Евразии, была проведена с использованием критерия знаков и линейной регрессии. Каждому типу климата и гаплотипу *N. ceranae* было присвоено числовое значение, включая повторные выборки. Модель линейной регрессии не выявила линейной связи между зависимым «геноваром» и независимыми переменными «климата» при $p < 1$ (тест знаков показал, что группы «геновар» и «климат» имеют одинаковый размер при $p < 0,0001$).

Заклучение

Данные аминокислотной последовательности белка *PTP3* с пасеки Республики Татарстан и других регионов Евразии позволяют предположить, что у медоносных пчел гибридной среднерусской породы возбудитель «азиатского» нозематоза, вызванный *N. ceranae*, имеет как общие основные, так и специфические геновары. Наличие основных евразийских геноваров *N. ceranae* на пасеке

Республики Татарстан вызывает предположение о заносе паразитов.

Настоящее исследование расширяет данные о существующих уникальных геноварах белка *PTP3* вида *N. ceranae*: в настоящее время существует 37 уникальных геноваров [14]. Хотя в данном исследовании не было обнаружено линейной связи между геноварами белка *PTP3* и геоклиматическим регионом, наличие новых уникальных геноваров параллельно с другими евразийскими странами разных геоклиматических регионов может указывать на соответствие с географическим разнообразием пчел. Среди пород и линий медоносных пчел, обитающих на территории Российской Федерации, имеются различия по устойчивости к нозематозу и большие генетические вариации по сравнению с медоносными пчелами Германии и Италии [15]. Нет сомнения, что гибридизация разных пород медоносных пчел может привести к появлению новых геноваров микроспоридии и нарушению эволюционно сложившегося генетического комплекса, что приведет к генетическому дисбалансу.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. *Insolia L., Molinari R., Rogers S.R. et al.* Honey bee colony loss linked to parasites, pesticides and extreme weather across the United States // *Scientific Reports*. 2022. № 12. DOI 10.1038/s41598-022-24946-4.
2. *Van Espen M., Williams J.H., Alves F. et al.* Beekeeping in Europe facing climate change: a mixed methods study on perceived impacts and the need to adapt according to stakeholders and beekeepers // *Science of the Total Environment*. 2023. № 888. DOI 10.1016/j.scitotenv.2023.164255.
3. *Forfert N., Natsopoulou M.E., Frey E. et al.* Parasites and pathogens of the honeybee (*Apis mellifera*) and their influence on inter-colonial transmission // *PLOS ONE*. 2015. № 10. DOI 10.1371/journal.pone.0140337.
4. *Гробов О.Ф., Смирнов А.М., Попов Е.Т.* Болезни и вредители медоносных пчел: справочник. М.: Агропромиздат, 1987. С. 335
5. *Bartolomé C., Buendía-Abad M., Benito M. et al.* Longitudinal analysis on parasite diversity in honeybee colonies: new taxa, high frequency of mixed infections and seasonal patterns of variation // *Scientific Reports*. 2020. № 10. DOI 10.1038/s41598-020-67183-3.
6. *Galajda R., Valenčáková A., Sučík M. et al.* Nosema disease of European honey bees // *Journal of Fungus*. 2021. DOI 10.3390/jof7090714.
7. *Смирнов А.М., Сохликов А.Б.* Лечение нозематоза // *Пчеловодство*. 2002. № 4. С. 28-29.
8. *Fries I., Feng F., Da Silva A. et al.* Nosema ceranae n. sp. (Microspora, Nosematidae), morphological and molecular characterization of a microsporidian parasite of the Asian honey bee *Apis cerana* (Hymenoptera, Apidae) // *European Journal of Protistology*. 1996. № 32. P. 356-365. DOI 10.1016/S0932-4739(96)80059-9.
9. *Van der Zee R., Gómez-Moracho T., Pisa L. et al.* Virulence and polar tube protein genetic diversity of *Nosema ceranae* (Microsporidia) field isolates from Northern and Southern Europe in honeybees (*Apis mellifera iberiensis*) // *Environmental microbiology reports*. 2014. DOI 10.1111/1758-2229.12133.
10. *Maside X., Gómez-Moracho T., Jara L. et al.* Population genetics of *Nosema apis* and *Nosema ceranae*: One host (*Apis mellifera*) and two different histories // *PLoS One*. 2015. DOI 10.1371/journal.pone.0145609.
11. *Шакиров Р.Ф., Никитин И.Н.* Эпизоотология отдельных инфекционных и инвазионных болезней пчел в Республике Татарстан // *Ученые записки КГБВМ им. Н.Э. Баумана*. 2016. Т. 227, № 3. С. 56-59. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=26688490>.
12. *Березин А.С.* Методы морфометрии в определении породной принадлежности медоносных пчёл // *Биомика*. 2019. Т. 11(2). С. 167-189. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2019-16.
13. *Peuvel I., Peyret P., Méténier G. et al.* The microsporidian polar tube: evidence for a third polar tube protein (PTP3) in *Encephalitozoon cuniculi* // *Molecular and biochemical parasitology*. 2002. № 122. P. 69-80. DOI 10.1016/S0166-6851(02)00073-7.
14. *Shamaev N.D., Shuralev E.A., Mukminov M.N.* Current status of *Nosema* spp. infection cases in *Apis mellifera* in Eurasian countries and Ptp3 gene haplotypes in the Republic of Tatarstan, Russia. *Veterinary Research Communications*. 2024. DOI: 10.1007/s11259-024-10383-3.
15. *Островерхова Н.В., Конусова О.Л., Погорелов Ю.Л.* Морфометрическая и молекулярно-генетическая характеристика пчелосемей Томской области, зараженных нозематозом // *Современное состояние и перспективы развития пчеловодства в Сибири: Материалы региональной научно-практической конференции (Красноярск, 23-26 марта 2015 г.)*. Красноярск: Издательство ФГБНУ Красноярский НИИЖ, 2015. С. 36-42.

REFERENCES

1. *Insolia L., Molinari R., Rogers S.R. et al.* Honey bee colony loss linked to parasites, pesticides and extreme weather across the United States // *Scientific Reports*. 2022. № 12. DOI 10.1038/s41598-022-24946-4.
2. *Van Espen M., Williams J.H., Alves F. et al.* Beekeeping in Europe facing climate change: a mixed methods study on perceived impacts and the need to adapt according to stakeholders and beekeepers // *Science of the Total Environment*. 2023. № 888. DOI 10.1016/j.scitotenv.2023.164255.
3. *Forfert N., Natsopoulou M.E., Frey E. et al.* Parasites and pathogens of the honeybee (*Apis mellifera*) and their influence on inter-colonial transmission // *PLOS ONE*. 2015. № 10. DOI 10.1371/journal.pone.0140337.

4. Grobov O.F., Smirnov A.M., Popov E.T. Bolezni i vrediteli medonosny`kx pchel: spravochnik. M.: Agropromizdat, 1987. S. 335
5. Bartolomé C., Buendía-Abad M., Benito M. et al. Longitudinal analysis on parasite diversity in honeybee colonies: new taxa, high frequency of mixed infections and seasonal patterns of variation // Scientific Reports. 2020. № 10. DOI 10.1038/s41598-020-67183-3.
6. Galajda R., Valenčáková A., Sučík M. et al. Nosema disease of European honey bees // Journal of Fungus. 2021. DOI 10.3390/jof7090714.
7. Smirnov A.M., Sokxlikov A.B. Lechenie nozematoza // Pchelovodstvo. 2002. № 4. S. 28-29.
8. Fries I., Feng F., Da Silva A. et al. Nosema ceranae n. sp. (Microspora, Nosematidae), morphological and molecular characterization of a microsporidian parasite of the Asian honey bee *Apis cerana* (Hymenoptera, Apidae) // European Journal of Protistology. 1996. № 32. P. 356-365. DOI 10.1016/S0932-4739(96)80059-9.
9. Van der Zee R., Gómez-Moracho T., Pisa L. et al. Virulence and polar tube protein genetic diversity of *Nosema ceranae* (Microsporidia) field isolates from Northern and Southern Europe in honeybees (*Apis mellifera iberiensis*) // Environmental microbiology reports. 2014. DOI 10.1111/1758-2229.12133.
10. Maside X., Gómez-Moracho T., Jara L. et al. Population genetics of *Nosema apis* and *Nosema ceranae*: One host (*Apis mellifera*) and two different histories // PLoS One. 2015. DOI 10.1371/journal.pone.0145609.
11. Shakirov R.F., Nikitin I.N. E`pizootologiya ot del`ny`kx infekcionny`kx i invazionny`kx boleznej pchel v Respublike Tatarstan // Ucheny`e zapiski KGAVM im. N.E` . Bauman. 2016. T. 227, № 3. S. 56-59. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=26688490>.
12. Berezin A.S. Metody` morfometrii v opredelenii porodnoj prinadlezhnosti medonosny`kx pchel // Biomika. 2019. T. 11(2). S. 167-189. DOI: 10.31301/2221-6197.bmes.2019-16.
13. Peuvél I., Peyret P., Méténier G. et al. The microsporidian polar tube: evidence for a third polar tube protein (PTP3) in *Encephalitozoon cuniculi* // Molecular and biochemical parasitology. 2002. № 122. P. 69-80. DOI 10.1016/S0166-6851(02)00073-7.
14. Shamaev N.D., Shuralev E.A., Mukminov M.N. Current status of *Nosema* spp. infection cases in *Apis mellifera* in Eurasian countries and Ptp3 gene haplotypes in the Republic of Tatarstan, Russia. Veterinary Research Communications. 2024. DOI: 10.1007/s11259-024-10383-3.
15. Ostroverkxova N.V., Konusova O.L., Pogorelov Yu.L. Morfometricheskaya i molekulyarno-geneticheskaya kxarakteristika pchelosemej Tomskoj oblasti, zarazhenny`kx nozematozom // Sovremennoe sostoyanie i perspektivy` razvitiya pchelovodstva v Sibiri: Materialy` regional`noj nauchno-prakticheskoy konferenczii (Krasnoyarsk, 23-26 marta 2015 g.). Krasnoyarsk: Izdatel`stvo FGBNU Krasnoyarskij NIIZH, 2015. S. 36-42.

Информация об авторах

Шамаев Н.Д. — канд. биол. наук, доцент кафедры прикладной экологии;
Камбале Э.М. — аспирант кафедры прикладной экологии;
Валиахметов Д.И. — студент;
Севастьянова А.Д. — студентка;
Шуралев Э.А. — канд. вет. наук, доцент кафедры прикладной экологии;
Мукминов М.Н. — д-р. биол. наук, профессор кафедры прикладной экологии.

Information about the authors

Shamaev N.D. — Ph.D. in Biol. Sci., Associate Professor of the Department of Applied Ecology;
Kambale E.M. — Graduate student of the Department of Applied Ecology;
Valiakhmetov D.I. — Student;
Sevastyanova A.D. — Student;
Shuralev E.A. — Ph.D. in Vet. Sci., Associate Professor of the Department of Applied Ecology;
Mukminov M.N. — Dr. Biol. Sci., Professor of the Department of Applied Ecology.

Вклад авторов

Шамаев Н.Д. — определение цели и методов выполнения работы, анализ литературных источников, организация и участие в проведении экспериментов, анализ результатов экспериментов, введение, заключение;

Камбале Э.М. — анализ литературных источников, участие в проведении экспериментов, введение, заключение;

Валиахметов Д.И. — сбор литературных источников, участие в проведении экспериментов;

Севастьянова А.Д. — сбор литературных источников, участие в проведении экспериментов;

Шуралев Э.А. — определение методов выполнения работы, анализ результатов экспериментов;

Мукминов М.Н. — определение методов выполнения работы, анализ результатов экспериментов.

Contribution of the authors

Shamaev N.D. — determination of the purpose and methods of performing the work, analysis of literary sources, organization and participation in experiments, analysis of experimental results, introduction, conclusion;

Kambale E.M. — analysis of literary sources, participation in experiments, introduction, conclusion;

Valiakhmetov D.I. — collection of literary sources, participation in experiments;

Sevastyanova A.D. — collection of literary sources, participation in experiments;

Shuralev E.A. — determination of methods of performing the work, analysis of the results of experiments;

Mukminov M.N. — determination of methods of performing the work, analysis of the results of experiments.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 12.04.2024; одобрена после рецензирования 05.06.2024..Дата опубликования 02.12.2024.

The article was submitted 12.04.2024.; approved after reviewing 05.06.2024. Date of publication 02.12.2024.