

Научная статья/Research article

УДК 575.8:638.123:638.147:638.157

DOI: 10.36718/1819-4036-2025-11-120-133

Николай Дмитриевич Шамаев^{1✉}, Эдуард Аркадьевич Шуралев², Малик Нилович Мукминов³

¹Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА им. К.И. Скрябина, Москва, Россия

¹ФНЦ – Всероссийский НИИ экспериментальной ветеринарии им. К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко РАН, Москва, Россия

^{1,2,3}Казанская государственная медицинская академия – филиал Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования, Казань, Россия

³Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

¹nikolai.shamaev94@mail.ru

²eduard.shuralev@mail.ru

³malik-bee@mail.ru

ИДЕНТИФИКАЦИЯ *ACARAPIS WOODI* И *VARROA DESTRUCTOR* У *APIS MELLIFERA* С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЭКЗОГЕННОЙ ДНК УЛЬЕВОГО МУСОРА

Цель исследования – получение генетической информации о циркулирующих гаплотипах *A. woodi* и *V. destructor* с использованием экзогенной ДНК на отдельных пасаках Республики Татарстан. Задачи: определение уровня заражения *V. destructor* и *A. woodi* на отдельных пасаках в районах Республики Татарстан с циркулирующих гаплотипов и обнаружение следов заражения в колониях медоносных пчел с использованием экзогенной ДНК ульевого мусора. Объекты исследования – *A. woodi* и *V. destructor* в колониях *A. mellifera* на отдельных пасаках в Республике Татарстан в 2024 г. Пчелы подвидов *A. m. mellifera* и *A. m. carnica* были собраны в 13 районах Республики Татарстан в период с марта по июнь 2024 г. На одной пасеке в одном районе зафиксирован низкий уровень заражения клещом *V. destructor*; обнаружен один новый гаплотип, схожий с изолированными в других странах; на двух пасаках в двух районах зафиксирован низкий уровень заражения клещом *A. woodi*; обнаружен один гаплотип, идентичный изолированным в других странах и один уникальный гаплотип; несмотря на высокую эффективность пчеловодческих практик в Республике Татарстан, экзогенная ДНК ульевого мусора позволила обнаружить следы заражения клещами (ген *cox1* мтДНК) в колониях медоносных пчел на шести пасаках в шести районах; была обнаружена зависимость между обнаружением гена *cox1* мтДНК *A. woodi* и *V. destructor* в экзогенной ДНК ульевого мусора и подвидом *A. m. mellifera* в исследованных колониях.

Ключевые слова: эктопаразиты, *Varroa destructor*, *Acarapis woodi*, экзогенная ДНК, медоносная пчела, *Apis mellifera*, гаплотип

Для цитирования: 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. С. 120–133. DOI: 10.36718/1819-4036-2025-11-120-133.

Финансирование: работа выполнена за счет гранта Академии наук Республики Татарстан, предоставленного молодым кандидатам наук (постдокторантам) с целью защиты докторской диссертации, выполнения научно-исследовательских работ, а также выполнения трудовых функций в научных и образовательных организациях Республики Татарстан в рамках Государственной программы Республики Татарстан «Научно-технологическое развитие Республики Татарстан».

Nikolay Dmitrievich Shamaev^{1✉}, Eduard Arkadyevich Shuralev², Malik Nilovich Mukminov³

¹Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – K.I. Scriabin MBA

¹FSC – All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K.I. Skryabin and Ya.R. Kovalenko of the RAS

^{1,2,3}Kazan State Medical Academy – branch of the Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Kazan, Russia

³Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia

¹nikolai.shamaev94@mail.ru

²eduard.shuralev@mail.ru

³malik-bee@mail.ru

ACARAPIS WOODI AND VARROA DESTRUCTOR IDENTIFICATION IN APIS MELLIFERA USING EXOGENOUS DNA FROM HIVE DEBRIS

The aim of the study is to obtain genetic information on circulating haplotypes of A. woodi and V. destructor using exogenous DNA from selected apiaries in the Republic of Tatarstan. Objectives: to determine the level of V. destructor and A. woodi infection in selected apiaries in the districts of the Republic of Tatarstan using circulating haplotypes and to detect traces of infection in honey bee colonies using exogenous DNA from hive debris. The objects of the study were A. woodi and V. destructor in A. mellifera colonies in selected apiaries in the Republic of Tatarstan in 2024. Bees of the A. m. mellifera and A. m. carnica subspecies were collected in 13 districts of the Republic of Tatarstan from March to June 2024. Low levels of V. destructor mite infestation were recorded in one apiary in one district; one new haplotype similar to those isolated in other countries was detected; low levels of A. woodi mite infestation were recorded in two apiaries in two districts; one haplotype identical to those isolated in other countries and one unique haplotype were detected; despite high efficiency of beekeeping practices in the Republic of Tatarstan, exogenous DNA of hive debris allowed detection of traces of mite infestation (mtDNA cox1 gene) in honey bee colonies in six apiaries in six districts; a relationship was found between detection of A. woodi and V. destructor mtDNA cox1 gene in exogenous DNA of hive debris and the A. m. mellifera subspecies in the studied colonies.

Keywords: ectoparasites, Varroa destructor, Acarapis woodi, exogenous DNA, honeybee, Apis mellifera, haplotype

For citation: Shamaev ND, Shuralev EA, Mukminov MN. *Acarapis woodi* and *Varroa destructor* identification in *Apis mellifera* using exogenous DNA from hive debris. *Bulletin of KSAU*. 2025;(11):120-133. (In Russ.). DOI: 10.36718/1819-4036-2025-11-120-133.

Funding: this work was supported by a grant from the Academy of Sciences of the Republic of Tatarstan, awarded to young candidates of science (postdoctoral students) for the purpose of defending their doctoral dissertations, conducting research, and performing work functions in scientific and educational organizations of the Republic of Tatarstan within the framework of the State Program of the Republic of Tatarstan "Scientific and Technological Development of the Republic of Tatarstan".

Введение. Несмотря на то что число колоний медоносных пчел выросло во всем мире, за последние несколько десятилетий продолжают публиковаться сведения об увеличении потерь среди местных колоний [1–6]. Кроме того, спрос на услуги по опылению вырос непропорционально росту колоний медоносных пчел [7, 8]. В этом контексте многочисленные паразиты и заболевания угрожают здоровью медоносных пчел, поэтому обнаружение паразитических клещей, таких как *Varroa destructor* и *Acarapis woodi*, в колониях медоносных пчел (*Apis*

mellifera) имеет решающее значение для предупреждения нехватки этих важных опылителей сельскохозяйственных культур [1–10].

Эти эктопаразиты вносят значительный вклад в ежегодное сокращение колоний хозяина. *V. destructor*, паразитический клещ, губительный для медоносных пчел (*Apis mellifera*), питается гемолимфой и жировым телом пчел и осуществляет передачу патогенных вирусов. В исследованиях сообщается о резистентности к акарицидам (например, флувалинату), что затрудняет контроль за распространением клеща.

Возникнув как паразит *A. cerana* в Азии, *V. destructor* перешел на *A. mellifera* в середине XX в. Дальний Восток является первоначальной точкой проникновения *V. destructor* в 1970-х гг., вероятно, через трансграничную торговлю с Китаем/Северной Кореей [11]. В 1970-х годах он был обнаружен в Приморском крае. В 1980–1990 гг. он распространился на запад, достигнув европейской части России к 1990-м гг. *A. woodi* поражает трахеи взрослых пчел, нарушая дыхание, впервые был обнаружен в России в начале XX в. после его глобального распространения в качестве вредителя медоносных пчел и идентификации в Великобритании в 1919 г. [12, 13]. К 1930-м гг. заражения данным паразитом были зарегистрированы в европейской части России, вероятно, благодаря завезенным европейским породам пчел. Советские записи о пчеловодстве указывают на локальные вспышки акарапидоза на Кавказе и в Центрально-Черноземных регионах, где умеренный климат и высокая интенсификация пчеловодства способствовали распространению клещей. Однако едва заметные симптомы акарапидоза и отсутствие стандартизированной диагностики привели к занижению данных до 1980-х гг., когда широкое распространение начали получать передовые методы микроскопии. После обнаружения акарапидоза Л.И. Перепеловой в Тульской области в 1926 г. в дальнейшем случаи заболевания были зарегистрированы в 18 регионах современной территории России. Большая часть находок была отмечена в европейской части России, тогда как в азиатской части находок не было. Обширная территория России и климатическое разнообразие создали неравномерную распространенность *A. woodi*. Популяции диких пчел (например, *A. m. mellifera*) могут выступать в качестве резервуаров, хотя данных мало.

Традиционные методы обнаружения *V. destructor* и *A. woodi* (визуальная оценка, диссекция пчелы и микроскопия) являются трудоемкими, отнимают много времени и не обладают эффективностью, особенно на ранних стадиях заражения. Молекулярные методы с использованием экзогенной ДНК, определяемой здесь как генетический материал, происходящий извне от пчелы-хозяина, такой как ДНК, полученной от клеща, произвели революцию в диагностике, обеспечив специфическое, быстрое и высокопроизводительное обнаружение. Молекулярные методы с использованием экзогенной ДНК основаны на идентификации уникальных геном-

ных областей паразитов с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР), количественной ПЦР (кПЦР) или анализе ДНК окружающей среды, что обеспечивает непревзойденную точность даже при низких уровнях заражения [14, 15]. Для *V. destructor* молекулярные анализы часто нацелены на маркеры митохондриальной ДНК: гены цитохромоксидазы I (COI) или рибосомальную РНК. Исследования Evans et al. (2003) показали, что праймеры ПЦР, специфичные для последовательностей COI *V. destructor*, могут обнаруживать одного клеща в объединенных образцах пчел, что превосходит чувствительность традиционных методов [11]. Аналогичным образом анализы кПЦР количественно определяют нагрузку клещей путем амплификации ядерных генов, таких как EF1- α , что позволяет пчеловодам отслеживать динамику заражения и оценивать эффективность лечения. Этот подход особенно ценен для обнаружения форетических клещей, скрытых под склеритами пчел или в ячейках расплода, которые ускользают от визуального осмотра. Недавние достижения, такие как петлевая изотермическая амплификация (LAMP), позволяют проводить диагностику в полевых условиях с использованием портативных устройств, обходя необходимость в термоциклерах. Напротив, обнаружение *A. woodi* исторически основывалось на микроскопическом исследовании трахей пчел, методе, требующем специализированных знаний и склонном к ложноотрицательным результатам. Молекулярные инструменты обходят эти ограничения, амплифицируя видоспецифическую ДНК из тканей пчел или остатков улья. Sammaturo et al. (2012) разработали ПЦР-анализ, нацеленный на ген рРНК *A. woodi* 18S, способный идентифицировать клещей у пчел с ранними стадиями заражения [16]. Этот метод также отличает *A. woodi* от родственных видов, таких как *A. dorsalis*, что снижает риск неправильной диагностики. Кроме того, метабаркодирование eDNA – секвенирование ДНК, извлеченной из субстратов ульев, таких как воск, пыльца или мертвые пчелы, обеспечивает неинвазивную стратегию наблюдения. Фильтруя образцы окружающей среды и амплифицируя ДНК клещей, исследователи могут одновременно проверять несколько колоний, как было продемонстрировано в исследовании 2021 г., которое обнаружило *A. woodi* в 30 % бессимптомных ульев [17]. Хотя в последние десятилетия *A. woodi* затмевает *V. destructor* со своими более разрушительными последствиями

для колонии медоносных пчел, *A. woodi* остается проблемой для российского пчеловодства, особенно в регионах с особыми климатическими и пчеловодческими условиями. Заражения клещами, в том числе вызываемые видами *V. destructor* и *A. woodi*, являются яркими примерами угроз, с которыми сталкиваются колонии медоносных пчел. По этой причине текущие передовые исследования распространения эктопаразитов, методов их индикации и идентификации, в том числе молекулярно-генетические исследования, имеют важное значение для самих хозяев – медоносных пчел. Эффективным методом идентификации эктопаразитов, которые не сразу заметны, но ранее контактировали с ульем и самими медоносными пчелами, является поиск и использование следов организмов в ульевом мусоре при помощи эДНК. Раннее обнаружение и отслеживание распространения этих двух эктопаразитов медоносных пчел будет эффективнее с применением данного подхода [18].

Цель исследования – получение генетической информации о циркулирующих гаплотипах *A. woodi* и *V. destructor* с использованием экзогенной ДНК на отдельных пасеках Республики Татарстан.

Задачи: определение уровня заражения *V. destructor* и *A. woodi* на отдельных пасеках в районах Республики Татарстан с определением циркулирующих гаплотипов и обнаружение следов заражения в колониях медоносных пчел с использованием экзогенной ДНК ульевого мусора.

Объекты и методы

Образцы медоносных пчел. Пчелы подвидов *A. m. mellifera* и *A. m. carnica* были собраны в 13 районах Республики Татарстан в период с марта по июнь 2024 г.

Всего было собрано 7 800 медоносных пчел с 26 частных пасек, расположенных в 13 районах Республики Татарстан, Россия. Процесс сбора образцов был приведен ранее [19]. Для сбора образцов в этом исследовании были выбраны следующие районы: Азнакаевский, Альметьевский, Апастовский, Буинский, Верхнеуслонский, Высокогорский, Елабужский, Зеленодольский, Камско-Устьинский, Лаишевский, Мензелинский, Муслюмовский и Сабинский. Перед выделением ДНК образцы медоносных пчел хранились при температуре –30 °С.

Метод измерения количества пчел в улье. Количество рабочих пчел в улье медо-

носных пчел оценивалось с использованием следующей информации: около трети рабочих пчел в улье каждый день собирают нектар и пыльцу. На основе среднего количества полетов в день одной пчелы и времени, потраченного на поиск нектара и пыльцы, можно использовать следующую формулу для расчета количества пчел в улье

$$N = 3 \cdot (f/0.0138),$$

где N – количество пчел в улье; f – количество пчел, покидающих гнездо за одну минуту (переменная f округлялась до ближайшего целого числа); значение 0.0138 – среднее количество времени, затрачиваемого на поиски нектара и пыльцы, для средней колонии медоносных пчел в средний день.

Метод оценки общей численности популяции клещей в колонии. Образец из примерно 300 живых пчел собирался из 13 районов (2 пасеки в каждом районе) в пластиковый контейнер. Замороженные образцы пчел в дальнейшем использовались для определения нагрузки клещами *Varroa destructor* и *Acarapis woodi* [20]. Доля зараженных клещами пчел (из 300) использовалась для расчета уровня заражения всего улья [21]. Измерение количества пчел в улье проводилось в то же время, что и отбор проб для определения уровня заражения клещами, чтобы точно рассчитать общий уровень заражения колонии [22]. Общее количество пчел в колонии было умножено на долю зараженных рабочих в исследуемом образце, чтобы получить размер популяции клеща *Varroa destructor* и *Acarapis woodi* в форетической фазе (во время которой клещ находится на/в теле пчелы).

Модифицированный метод оценки общей численности естественно погибших клещей *Varroa destructor*. Этот метод основан на количественной оценке естественно погибших и упавших вниз улья клещей. Несмотря на то что различные исследования делают противоречивые выводы относительно точности метода оценки естественно погибших клещей для определения общей степени заражения, поскольку количество упавших вниз улья клещей во многом определяется количеством появляющегося зараженного расплода [23], в целом данный метод считается хорошим индикатором заражения колонии [24]. Для оценки общей численности естественно погибших клещей нижний пластиковый поддон вытаскивался из улья и клещи на нем подсчитывались. Мертвые пчелы на по-

верхности поддона также проверялись, поскольку в случае падения живого клеща вниз улья мертвые пчелы могут притянуться к себе паразита. Сбор данных проводился в течение 2 недель. Полученный показатель был усреднен для получения среднего недельного количества упавших клещей. Этот период охватывает естественные колебания падения клещей, связанные с циклами динамики популяции в пределах хозяина. На основе среднего недельного количества упавших клещей был рассчитан общий уровень заражения колонии, а именно: число ежедневно падавших клещей было умножено на поправочный коэффициент (250).

Индикация и идентификация клещей *Varroa destructor* и *Acarapis woodi* с использованием экзогенной ДНК. Перед экстракцией ДНК с каждого пластикового поддона со дна улья считали весь ульевого мусор и измельчали ультразвуком в 5 мл вновь добавленной mQ воды. Экстракцию ДНК из образцов ульевого мусора проводили по ранее описанному протоколу [15]. Пробирки встряхивали в течение 1 мин и инкубировали при 40 °C в течение 30 мин. Затем пробирки центрифугировали при комнатной температуре в течение 25 мин при 5000× g с дальнейшим удалением супернатанта. После ресуспендирования осадка в 5 мл mQ воды содержимое 4 пробирок объединяли в одну и еще раз разбавляли mQ водой. Осадок ресуспендировали в 0,5 мл mQ воды после центрифугирования в течение 25 мин при 5000× g при комнатной температуре с удалением супернатанта. Затем в каждый образец добавляли 1 мл СТАВ буфера (2 % (w/v) цетилтриметиламмоний бромида; 1,4 M NaCl; 100 mM Трис-HCl; 20 mM ЭДТА; pH 8) и 5 мкл раствора РНКазы А (10 мг/мл). Полученную смесь инкубировали в течение 10 мин при 60 °C. Далее добавляли 30 мкл протеиназы К (20 мг/мл), перемешивали и инкубировали 90 мин при 65 °C. Далее образцы охлаждали до комнатной температуры и центрифугировали при 16 000× g в течение 10 мин. После центрифугирования 700 мкл супернатанта переносили в пробирку с 500 мкл хлороформа/изоамилового спирта (24 : 1) и встряхивали. Далее центрифугировали при 16 000×g 15 мин при комнатной температуре. После переноса супернатанта в чистую пробирку объемом 1,5 мл для осаждения ДНК использовали 500 мкл изопропанола, а для промывки – 500 мкл 70 % этанола. Осадки хранили при –20 °C до проведения ПЦР-анализа и до начала использования регидратировали

30 мкл mQ воды. Выделенную ДНК визуально оценивали с помощью электрофореза в 1% агарозном геле в буфере TBE 1X, а качество подтверждали с помощью нанопотометра. Для ПЦР-анализа использовали сконструированные в Primer BLAST *Acarapis woodi*-специфичные праймеры F_CTCCAGCTGTAACAAGGGTTGA и R_ATT-GGGTGGGATGGCTTAGG для амплификации *mtДНК гена cox1* размером 322 п.н. и *Varroa destructor*-специфичные праймеры F_GGAGTAGGTACAGGTTGAACGG и R_AGGCTGCTTCTTCCCTCTTTG для амплификации *mtДНК гена cox1* размером 441 п.н.

Построение филогенетического дерева.

Филогенетическое дерево было построено с использованием метода ближайших соседей (Neighbor-Joining method) [25]. На рисунке 1 показано оптимальное дерево. Для расчета процент реплик деревьев, в которых связанные таксоны подверглись кластеризации, использовался bootstrap тест (1000 реплик); процент реплик деревьев показан под ветвями. Дерево нарисовано в масштабе, с длинами ветвей в тех же единицах, что и эволюционные расстояния, используемые для вывода филогенетического дерева. Эволюционная дистанция была вычислена с использованием метода Tajima-Nei [25] и находится в единицах числа замен оснований на сайт. Различия в смещении состава между последовательностями рассмотрены с использованием модели замен. В анализ вошли 103 нуклеотидные последовательности. Все участки последовательностей, содержащие пробелы и отсутствующие данные, были удалены (опция полного удаления). Всего в конечном наборе данных было 719 позиций. Эволюционный анализ был проведен в MEGA11 [26].

Статистический анализ. Для интерпретации полученных данных были рассмотрены зависимости между полученными переменными. Переменным были присвоены названия: BS (подвид пчелы *A. m. carnica* и *A. m. mellifera*), AW (визуальное обнаружение клеща *A. woodi*), VD (визуальное обнаружение клеща *V. destructor*), exAW (обнаружение клеща *A. woodi* в экзогенной ДНК), и exVD (обнаружение клеща *V. destructor* в экзогенной ДНК). Корреляционный анализ проводили с использованием теста Пирсона, линейная регрессия проводилась с использованием статистического программного обеспечения для MS Excel.

Результаты и их обсуждение. Клещи *A. woodi* были обнаружены в трахеях собранных медо-

носных пчел *A. m. carnica* в Камско-Устьинском районе. Численность популяции трахейного клеща *A. woodi* в колонии пчелы составила 235 особей на улей из 8 697 пчел (2,7 %, 95 % доверительный интервал: 2,37–3,07 %). Клещи *A. woodi* были обнаружены в трахеях, а *V. destructor* – на брюшке сбоку и на груди собранных медоносных пчел *A. m. mellifera* в Лаишевском районе. Численность популяции трахейного клеща *A. woodi* в колонии пчелы составила 869 особей на улей из 4 347 пчел (19,99 %, 95 % доверительный интервал: 18,81–21,21 %). Численность популяции *V. destructor* в колонии пчелы составила 250 особей на улей из 4 347 пчел (5,75 %, 95 % доверительный интервал: 5,08–6,49 %). Клещи *A. woodi*

были обнаружены в трахеях собранных медоносных пчел *A. m. mellifera* в Высокогорском районе. Численность популяции трахейного клеща *A. woodi* в колонии пчелы составила 557 особей на улей из 5 217 пчел (10,67 %, 95 % доверительный интервал: 9,85–11,55 %) (табл. 1). В Альметьевском, Апастовском, Азнакаевском, Буинском, Мензелинском, Муслюмовском, Сабинском, Верхнеуслонском и Зеленодольском, а также в Апастовском, Буинском, Елабужском, Камско-Устьинском, Лаишевском, Муслюмовском, Сабинском, Верхнеуслонском, Высокогорском и Зеленодольском районах *A. woodi* и *V. destructor* обнаружено не было.

Таблица 1

Оценка общей численности популяции клещей *Acarapis woodi* и *Varroa destructor* в колониях медоносной пчелы *Apis mellifera* на обследованных пасеках Республики Татарстан и обнаружения экзогенной ДНК эктопаразитов

Estimation of the total population size of *Acarapis woodi* and *Varroa destructor* mites in colonies of the honey bee *Apis mellifera* in surveyed apiaries of the Republic of Tatarstan and detection of exogenous DNA of ectoparasites

Район	Номер пасеки в статье	Общее кол-во взрослых рабочих пчел в улье	Численность <i>A. woodi</i> в колонии	Обнаружение <i>A. woodi</i> в эДНК	Численность <i>V. destructor</i> в колонии	Обнаружение <i>V. destructor</i> в эДНК
1	2	3	4	5	6	7
Альметьевский	1	4565	–	–	–	–
	2	7826	–	+	–	–
Апастовский	3	5652	–	–	–	–
	4	4782	–	–	–	–
Азнакаевский	5	7609	–	–	–	–
	6	12826	–	–	–	–
Буинский	7	6304	–	–	–	–
	8	8260	–	–	–	–
Елабужский	9	10217	–	–	–	+
	10	6304	–	–	–	–
Камско-Устьинский	11	8697	235	+	–	–
	12	6956	–	–	–	–
Лаишевский	13	4347	869	+	250	+
	14	8913	–	–	–	–
Мензелинский	15	8478	–	–	–	–
	16	8260	–	+	–	–
Муслюмовский	17	7609	–	–	–	–
	18	6956	–	–	–	–
Сабинский	19	6304	–	–	–	–
	20	7173	–	–	–	–
Верхнеуслонский	21	6304	–	–	–	–
	22	7826	–	–	–	–

Окончание табл. 1

1	2	3	4	5	6	7
Высокогорский	23	6957	557	+	–	+
	24	5217	–	–	–	–
Зеленодольский	25	8478	–	–	–	–
	26	7391	–	–	–	–

A. woodi склонен распространяться горизонтально из зараженной колонии в свободную колонию. Это может быть причиной того, что *A. woodi* так локально распространен на пасеках в данном исследовании. Известно, что взрослые пчелы в большей степени склонны быть ослабленными и/или иметь деформированные крылья во время заражения *V. destructor* (и в меньшей степени это выражено при заражении *A. woodi*); при этом пчелы не могут вылетать из ульев и собирать нектар и пыльцу. В данном исследовании медоносные пчелы *A. mellifera* собирали нектар и пыльцу и визуально не были ослабленными, также не имели деформированных крыльев, что может быть одним из подтверждений редкого обнаружения клещей *V. destructor* у *A. mellifera* на пасеках. Другой причиной малого обнаружения двух видов клеща было применение флавулината (со слов пчеловодов). Однако, даже несмотря на то, что в большинстве случаев на пасеках применялся

флавулинат, а также учитывая тот факт, что в период исследования основная масса клещей *V. destructor* находится в запечатанном расплоде и определение степени поражения взрослых пчел клещом *Varroa* не может служить объективным показателем поражения и клещей обнаружить не удалось, была обнаружена экзогенная ДНК *A. woodi* в Альметьевском и Мензелинском районах и экзогенная ДНК *V. destructor* в Елабужском и Высокогорском районах. По результатам исследования было выявлено присутствие клещей у двух подвидов медоносной пчелы: *A. m. carnica* и *A. m. mellifera*. С использованием переменных BS, AW, VD, exAW и exVD было решено построить корреляционную матрицу Пирсона. По ее результатам не было выявлено корреляции между присутствием клеща *A. woodi* ($r = -0,085$) и *V. destructor* ($r = 0,17$) на пасеках ни у одного из подвидов медоносной пчелы (рис. 1).

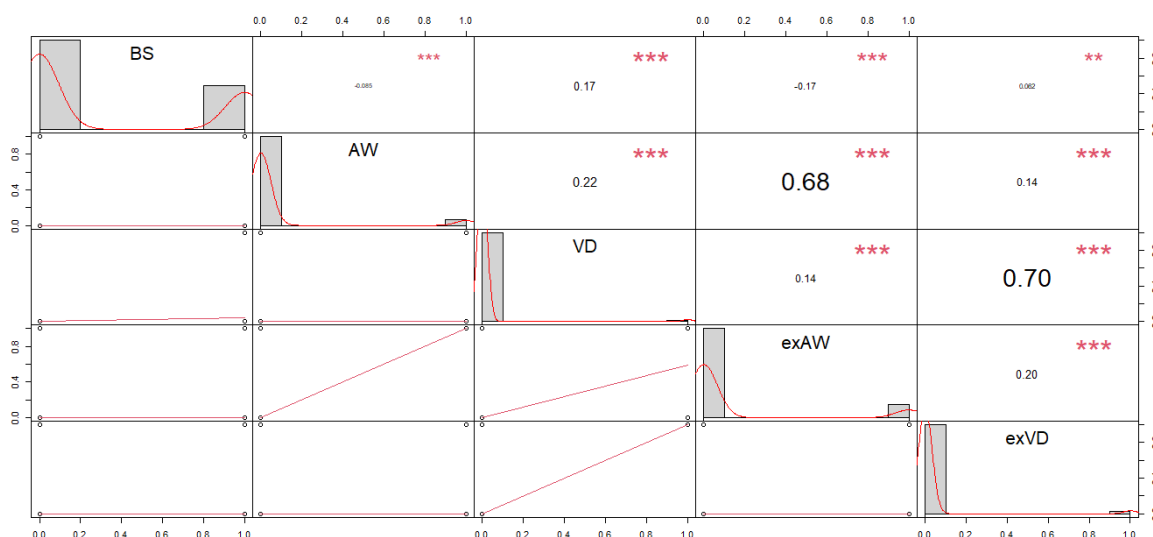


Рис. 1. Корреляционная матрица Пирсона с использованием данных визуального обнаружения клещей *A. woodi* и *V. destructor* и обнаружения экзогенной ДНК клещей в ульевом мусоре и данных подвида медоносных пчел с заклещеванных пасек Республики Татарстан
 Pearson correlation matrix using visual detection data of *A. woodi* and *V. destructor* mites and detection of exogenous DNA of mites in hive debris and honey bee subspecies data from mite-infested apiaries of the Republic of Tatarstan

Выявление экзогенной ДНК высоко коррелировало с визуальным обнаружением клещей *A. woodi* ($r = 0,68$) и *V. destructor* ($r = 0,7$) на пасаках. Линейная регрессия выявила достоверную связь между AW (визуальным обнаруже-

нием клеща *A. woodi*) и подвидом пчелы (табл. 2). Кроме того, обнаружение как клеща *A. woodi*, так и *V. destructor* в экзогенной ДНК (exAW и exVD) в обоих случаях было связано с подвидом *A. m. mellifera*.

Таблица 2

Результаты линейного регрессионного анализа на наличие связи между подвидом пчелы *Apis mellifera*, заклещёванностью *Acarapis woodi* и *Varroa destructor* на обследованных пасаках Республики Татарстан, а также обнаружением экзогенной ДНК эктопаразитов
Linear regression analysis for the relationship between *Apis mellifera* subspecies, *Acarapis woodi* and *Varroa destructor* infestation in the surveyed apiaries in the Republic of Tatarstan, and ectoparasite exogenous DNA detection

Переменная	R ²	Стандартная ошибка	Уровень значимости p
AW	-0,712	0,136	< 0,05 (достоверно)
VD	0,132	0,182	> 0,05
AW	-1,61659	0,22559	< 0,05 (достоверно)
VD	1,44795	0,32881	< 0,05 (достоверно)

Слабая положительная корреляция между заклещёванностью *A. woodi* и *V. destructor* ($r = 0,22$) (табл. 2) и достоверная связь между наличием экзогенной ДНК *A. woodi* и *V. destructor* и подвидом *A. m. mellifera* могут предполагать взаимное усиление восприимчивости хозяина к заражению одним из видов эктопаразитов. Несмотря на то что в 1964 г. в СССР выявили *V. destructor* и сопутствующее заболевание варроатоз пчел, считается, что случаи акарапидоза сократились в связи с широким применением различных акари-

цидных средств [27]. Вполне возможно, что в условиях применения акарицидов на исследованных пасаках (со слов пчеловодов) эктопаразиты в ульях все равно сохраняются. В связи с этим анализ гаплотипов эктопаразитов особо важен. Экзогенная ДНК *A. woodi* с обследованных пасек в этом исследовании показала, что клещи имели один гаплотип, идентичный изолированным в других странах (Турция, Япония) – гаплотип «RT-12nov24-tm1» и один уникальный гаплотип – «RT-12dec24-tm15» (рис. 2).

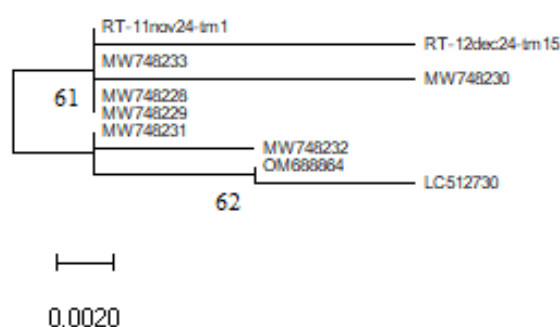


Рис. 2. Филогенетическое дерево, построенное методом ближайших соседей, на основе последовательностей мтДНК гена *cox1* *Acarapis woodi*. Все названия изолятов сопровождаются их номерами доступа GenBank

Neighbor-Joining phylogenetic tree of *Acarapis woodi* based on mtDNA sequences of the *cox1* gene. All entries isolate names are followed by their GenBank accession numbers

Митохондриальные последовательности *cox1* *A. woodi* в Республике Татарстан, которые полностью идентичны изолятам из Турции, указывают на генетическую близость изолятов. Кроме того, результаты филогенетического анализа

показали, что существующие изоляты также тесно связаны с *A. woodi*, обнаруженным у *A. cerana japonica* в Японии (LC512730). Судя по тому, что оба подвида медоносной пчелы в данном исследовании были заражены клещом (*A. m. mellifera* и

A. m. carnica), принадлежность к какому-либо подвиду в пределах вида *A. mellifera* не является барьером для распространения *A. woodi*. Однако в данном исследовании *A. m. mellifera* была заражена чаще, что статистически подтверждается результатами линейно-регрессионного анализа ($p < 0,05$). Существует вероятность наличия выгодных взаимодействий с популяцией конкретного подвиды хозяина *A. m. mellifera*, которые выгоднее для конкретного гаплотипа эктопаразита *A. woodi*. Подтверждением этому может служить наличие уникального гаплотипа «RT-12dec24-tm15». Остается вопрос об уникальности данного гаплотипа для территории пасеки в пределах Республики Татарстан.

Экзогенная ДНК *V. destructor* с обследованных пасек в Республике Татарстан в этом исследовании показала, что клещи имели почти

идентичный гаплотип («RT-12oct24-t3») с изолятами, собранными из Сербии, Турции, Аргентины, Кореи, Вьетнама и Новой Зеландии (рис. 3). Тем не менее наблюдаемый гаплотип отличался на один нуклеотид, что достаточно, чтобы предположить генетическую дифференциацию. Доминирующий корейский гаплотип (штамм К), выявленный у российских клещей с помощью исследований митохондриальной ДНК, в зарубежных исследованиях демонстрирует высокую вирулентность и адаптивность. Однако обнаруженный в данном исследовании гаплотип потенциально может отличаться от ранее зафиксированного корейского штамма К. Присутствие паразитов *V. destructor* с генетическими различиями указывает на наличие взаимодействий с популяцией хозяина, которые управляют эволюцией *V. destructor*.

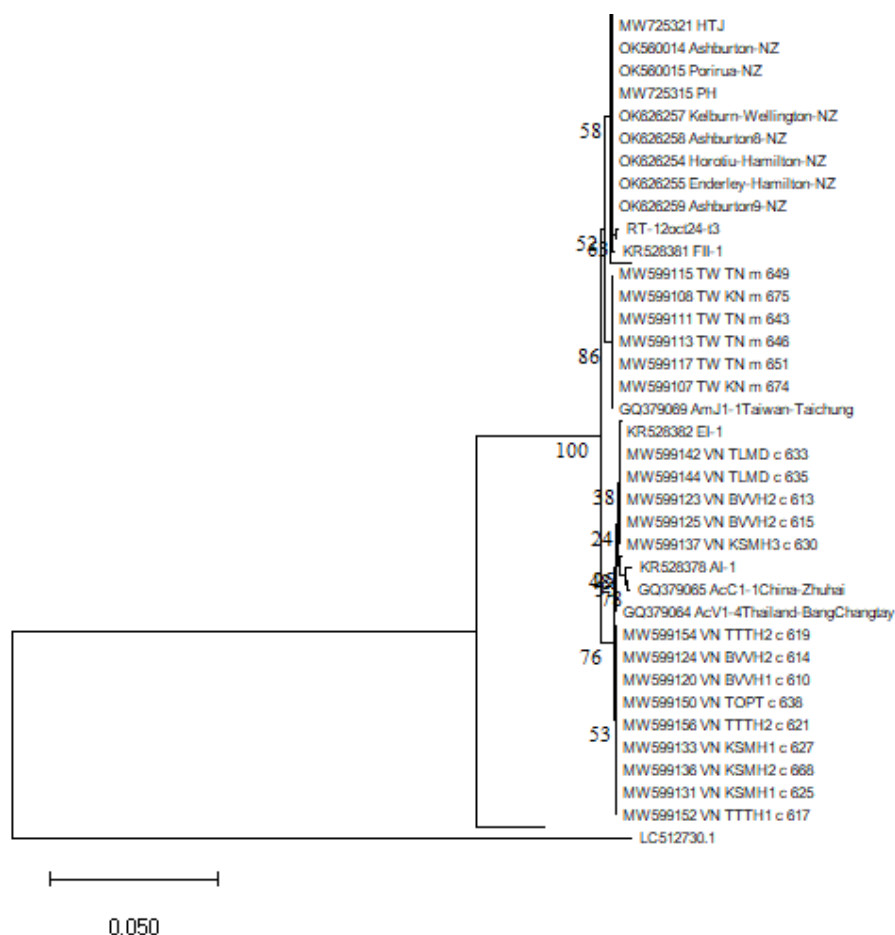


Рис. 3. Филогенетическое дерево, построенное методом ближайших соседей, на основе последовательностей мтДНК гена *cox1* *Varroa destructor*.

Стрелки обозначают клещей, собранных с *Apis mellifera* в этом исследовании.

Все названия изолятов сопровождаются их номерами доступа GenBank

Neighbor-Joining phylogenetic tree of *Varroa destructor* based on mtDNA sequences of the *cox1* gene. Arrows designate mites collected from *Apis mellifera* in this study. All entries isolate names are followed by their GenBank accession numbers

Заключение. Несмотря на то что паразитические клещи *V. destructor* в целом чаще встречаются на пасеках, чем *A. woodi*, у обоих видов существуют наиболее «вредоносные» гаплотипы. Исходя из обнаруженных гаплотипов у обоих видов, особенно уникальных, требуется дальнейший анализ на переносимые патогены, так как данное свойство придает гаплотипам их «вредоносность». Связь подвидов медоносной пчелы с паразитическими клещами требует дальнейшей оценки с использованием большей выборки, молекулярной идентификацией подвидов пчелы с оценкой метизации, гигиенического поведения, так как, например, исследования *A. m. carnica* предполагают, что у подвида повышается процент заклещеванности при гибридизации с *A. m. mellifera*, но снижается при гибридизации с *A. m. iberiensis* [27–31]. Кроме того, в дальнейшем необходимо комплексно оценить объективность использования методик расчета клещевой нагрузки в колониях медоносной пчелы на территории исследования.

На отдельных пасеках в районах Республики Татарстан было обнаружено: 1) на трех пасеках в трех районах зафиксирован низкий уровень заражения *A. woodi*; обнаружены два гаплотипа: один уникальный и один общий, идентичный изолированным по всему миру; 2) на одной пасеке в одном районе зафиксирован низкий уровень заражения клещом *V. destructor*; обнаружен 1 гаплотип, схожий с изолированными по всему миру; 3) несмотря на то что в период исследования основная масса клещей *V. destructor* находится в запечатанном расплоде и определение степени поражения взрослых пчел клещом *Varroa* не может служить объективным показателем поражения, экзогенная ДНК ульевого мусора позволила обнаружить следы заражения клещами в колониях медоносных пчел в целом на шести пасеках в шести районах; 4) обнаружение экзогенной ДНК *A. woodi* и *V. destructor* было статистически достоверно связано с подвидом *A. m. mellifera* в исследованных колониях.

Список источников

1. Shamaev N.D., Shuralev E.A., Nikitin O.V., et al. Beekeeping practice-related factors that impact nosemosis prevalence in honey bees in the Republic of Tatarstan, Russia // Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2025. Vol. 72, N 3. P. 365–376. DOI: 10.33988/auvfd.1594759.
2. Хасбиева Д.Р., Камбале Е.М., Ндаишимийе Э.В., и др. Нозематоз в руандийских районах добычи полезных ископаемых. В сб.: Международная научно-практическая конференция «Мировые и российские тренды пчеловодства и апитерапии: реалии и вызовы будущего», 14–16 ноября 2024 г. Рыбное: Федеральный научный центр пчеловодства, 2025. С. 272–278. EDN: KJHUWY.
3. 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.
4. Hristov P., Shumkova R., Palova N., et al. Factors associated with honey bee colony losses: A Mini-Review // Veterinary Sciences. 2020. Vol. 7. DOI: 10.3390/vetsci7040166. EDN: LRWGOE.
5. 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. Vol. 48, N 4. P. 2691–2698. DOI: 10.1007/s11259-024-10383-3. EDN: YXUOOP.
6. Шамаев Н.Д., Камбале Э.М., Валиахметов Д.И., и др. Биоразнообразие геноваров *Nosema ceranae* в популяции *Apis mellifera* с гибридными признаками в условиях пасеки // Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. 2024. № 4 (52). С. 597–605. DOI: 10.36871/vet.san.hyg.ecol.202404016. EDN: CFGQFZ.
7. 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.
8. Мукминов М.Н., Шуралев Э.А., Казарян Г.Г., и др. Микроспоридии, ассоциированные с инфекциями медоносных пчел. В сб.: Международная научно-практическая конференция «Пчеловод-

- ство и апитерапия: актуальные вопросы, достижения и инновации», 15–16 декабря 2023 г. Рыбное: Федеральный научный центр пчеловодства, 2024. С. 113–118. EDN: CEIONM.
9. Шамаев Н.Д. Методы биотехнологии в изучении экологии и биогеографии медоносной пчелы и решении проблем интенсификации пчеловодства В сб.: Международная научно-практическая конференция «Пчеловодство и апитерапия: актуальные вопросы, достижения и инновации», 15–16 декабря 2023 г. Рыбное: Федеральный научный центр пчеловодства, 2024. С. 194–198. EDN: ISBLYO.
10. Шамаев Н.Д., Шуралев Э.А., Мукминов М.Н. Территориальные и видовые закономерности геноварспецифических 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.hyg.ecol.202502013. EDN: KKNYZJ.
11. Evans J.D., Pettis J.S., Hood W.M., et al. Tracking an invasive honey bee pest: mitochondrial DNA variation in North American small hive beetles // Apidologie. 2003. Vol. 34, N 2. P. 103–109. DOI: 10.1051/apido:2003004f.
12. Столбова В.В. Распространение акарапидоза в России (обзор) // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. 2021. № 22. С. 499–503. DOI: 10.31016/978-5-6046256-1-3.2021.22.499-503. EDN: FZJSJJ.
13. Menapace D.M., Wilson W.T. *Acarapis woodi* mites found in honey bees from Colombia, South America // The American Bee Journal. 1980. Vol. 120. P. 761–765.
14. Navajas M., Migeon A., Alaux C., et al. Differential gene expression of the honey bee *Apis mellifera* associated with *Varroa destructor* infection // BMC Genomics. 2008. Vol. 9, N 301. DOI: 10.1186/1471-2164-9-301. EDN: TVRMFA.
15. 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 // Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. 2025. № 1 (53). С. 81–87. DOI: 10.36871/vet.san.hyg.ecol.202501000. EDN: CMBACJ.
16. Sammataro D., Guzman L., George S., et al. Standard methods for tracheal mite research // Journal of Apicultural Research. 2013. Vol. 52, N 4. DOI: 10.3896/IBRA.1.52.4.20. EDN: RPFXSV.
17. Roberts J.M.K., Hall R.J., Shams F., et al. Environmental DNA Methods for Detection of *Varroa destructor* in Honey Bee (*Apis mellifera*) Hives // Environmental DNA. 2025. Vol. 7. P. e70109. DOI: 10.1002/edn3.70109.
18. Ribani A., Taurisano V., Utzeri V.J., et al Honey environmental DNA can be used to detect and monitor honey bee pests: Development of methods useful to identify *Aethina tumida* and *Galleria mellonella* infestations // Veterinary Sciences. 2022. Vol. 9, N 213. DOI: 10.3390/vetsci9050213. EDN: EVXVIG.
19. Shamaev N.D., 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, N 4. P. 478–486. DOI: 10.15298/invertzool.21.4.03. EDN: CYMNHY.
20. Delaplane K.S., Van Der Steen J., Guzman E. Standard methods for estimating strength parameters of *Apis mellifera* colonies // Journal of Apicultural Research. 2013. Vol. 52, N 1. DOI: 10.3896/IBRA.1.52.1.03.
21. Martin S.J. A population model for the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies // Ecological Modelling. 1998. Vol. 109. P. 267–281. DOI: 10.1016/S0304-3800(98)00059-3. EDN: ABRJXT.
22. Fries I., Aarhus A., Hansen H., et al. Development of early infestations of *Varroa jacobsoni* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies in cold climates // Experimental and Applied Acarology. 1991. Vol. 11. P. 205–214. DOI: 10.1007/bf01246092. EDN: SGMOQQ.
23. Lobb N., Martin S.J. Mortality of the mite *Varroa jacobsoni* during or soon after the emergence of worker or drone honeybees // Apidologie. 1997. Vol. 28. P. 367–374.

24. Branco M.R., Kidd N.A.C., Pickard R.S. A comparative evaluation of sampling methods for *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) population estimation // *Apidologie*. 2006. Vol. 37. P. 452–461. DOI: 10.1051/apido:2006010.
25. 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, N 10. P. 1056–1062. DOI: 10.1292/jvms.24-0059. EDN: DTVOJW.
26. Tamura K., Stecher G., Kumar S. MEGA 11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11 // *Molecular Biology and Evolution*. 2021. N 38. P. 3022–3027. EDN: VZCJPQ.
27. Bai W.F., Lin Z.G., Yan W.Y., et al. Haplotype analysis of *Varroa destructor* and deformed wing virus using long reads // *Frontiers in Insect Science*. 2021. Vol. 1. P. 756886. DOI: 10.3389/finsc.2021.756886. EDN: DAGMAK.
28. Kaskinova M.D., Gaifullina L.R., Saltykova E.S., et al. Genetic markers for the resistance of honey bee to *Varroa destructor* // *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii*. 2020. Vol. 24, N 8. P. 853–860. DOI: 10.18699/VJ20.683. EDN: JESDFL.
29. Ключкова Г.А., Луцук С.Н., Червяков Д.Э. Анализ зараженности медоносных пчел некоторых пород варроатозом в Ставропольском крае // *Актуальные вопросы ветеринарной биологии*. 2024. № 62 (2). С. 31–36. DOI: 10.24412/2074-5036-2024-262-31-36. EDN: RLLYHN.
30. Al Naggar Y., Shafiey H., Paxton R.J. transcriptomic responses underlying the high virulence of black queen cell virus and sacbrood virus following a change in their mode of transmission in honey bees (*Apis mellifera*) // *Viruses*. 2023. Vol. 15, N 6. P. 1284. DOI: 10.3390/v15061284.
31. Sagastume S., Martín-Hernández R., Higes M., et al. Multihost pathogen transmission in wild bee communities // *Hidden and Wild: An Integrated Study of European Wild Bees*. DOI: 10.1007/978-3-031-76742-5_11.

References

1. Shamaev ND, Shuralev EA, Nikitin OV, et al. Beekeeping practice-related factors that impact nosemosis prevalence in honey bees in the Republic of Tatarstan, Russia. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 2025;72(3):365-376. DOI: 10.33988/auvfd.1594759.
2. Khasbieva DR, Kambale EM, Ndayishimiye EV, et al. Nozematoz v ruandijskikh rajonakh dobychi poleznykh iskopaemykh. In: *Mezhdunarodnaya nauchno-prakticheskaya konferentsiya «Mirovye i rossijskie trendy pchelovodstva i apiterapii: realii i vyzovy budushchego»*, 14–16 Nov 2024. Rybnoe: Federal'nyj nauchnyj tsentr pchelovodstva, 2025. P. 272–278. EDN: KJHUWY.
3. Tretyakova AB, Shamaev ND. Sistemy monitoringa tekhnologij i optimizatsiya ukhoda v sovremennom pchelovodstve. *Problemy veterinarnoj sanitarii, gigieny i ekologii: sbornik nauchnykh trudov*. 2025;123:92-97. (In Russ.). DOI: 10.31016/vet.san.2025-123-17. EDN: RVRCAZ.
4. Hristov P, Shumkova R, Palova N, et al. Factors associated with honey bee colony losses: A Mini-Review. *Veterinary Sciences*. 2020;7. DOI: 10.3390/vetsci7040166. EDN: LRWGOE.
5. Shamaev ND, Shuralev EA, Mukminov MN. 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;48(4):2691-2698. DOI: 10.1007/s11259-024-10383-3. EDN: YXUOOP.
6. Shamaev ND, Kambale EM, Valiakhmetov DI, et al. *Nosema ceranae* genetic variants biodiversity in a population of *Apis mellifera* with hybrid traits under apiary conditions. *Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology*. 2024;4(52):597-605 (In Russ.). DOI: 10.36871/vet.san.hyg.ecol.202404016. EDN: CFGQFZ.
7. Shamaev ND, Shuralev EA, Mukminov MN. Distribution of *Nosema apis* haplotypes in conditions of a single apiary in the Republic of Tatarstan. *Herald of the Ryazan State Agrotechnological University named after P.A. Kostychev*. 2024;16(3):92-101. (In Russ.). DOI: 10.36508/RSATU.2024.11.32.013. EDN: RFWYWM.

8. Mukminov MN, Shuralev EA, Kazarian GG, et al. Mikrosporidii, assotsirovannye s infektsiyami medonosnykh pchel. In: *Mezhdunarodnaya nauchno-prakticheskaya konferentsiya «Pchelovodstvo i apiterapiya: aktual'nye voprosy, dostizheniya i innovatsii»*, 15–16 Dec 2023. Rybnoe: Federal'nyj nauchnyj tsentr pchelovodstva; 2024. P. 113–118. EDN: CEIONM.
9. Shamaev ND. Metody biotekhnologii v izuchenii ekologii i biogeografii medonosnoj pchely i reshenii problem intensivatsii pchelovodstva In: *Mezhdunarodnaya nauchno-prakticheskaya konferentsiya «Pchelovodstvo i apiterapiya: aktual'nye voprosy, dostizheniya i innovatsii»*, 15–16 Dec 2023. Rybnoe: Federal'nyj nauchnyj tsentr pchelovodstva; 2024. P. 194–198. EDN: ISBLYO.
10. Shamaev ND, Shuralev EA, Mukminov MN. Territorial and species-specific regularities of genovar-specific combinations in the honey bee and its parasites. *Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology*. 2025;2(54):271-277. (In Russ.). DOI: 10.36871/vet.san.hyg.ecol.202502013. EDN: KKNYZJ.
11. Evans JD, Pettis JS, Hood WM, et al. Tracking an invasive honey bee pest: mitochondrial DNA variation in North American small hive beetles. *Apidologie*. 2003;34(2):103-109. DOI: 10.1051/apido:2003004f.
12. Stolbova VV. Distribution of acarapiosis in Russia (review). *Teoriya i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami*. 2021;22:499-503. (In Russ.). DOI: 10.31016/978-5-6046256-1-3.2021.22.499-503. EDN: FZJSJJ.
13. Menapace DM, Wilson WT. *Acarapis woodi* mites found in honey bees from Colombia, South America. *The American Bee Journal*. 1980;120:761-765.
14. Navajas M, Migeon A, Alaux C, et al. Differential gene expression of the honey bee *Apis mellifera* associated with *Varroa destructor* infection. *BMC Genomics*. 2008;9(301). DOI: 10.1186/1471-2164-9-301. EDN: TVRMFA.
15. Shamaev ND, Tretiakova AB, Kambale EM, et al. *Melissococcus plutonius* pathogen indication and identification using exogenous DNA isolated from the veterinary supervision objects of individual apiaries. *Russian Journal «Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology»*. 2025;1(53):81-87. (In Russ.). DOI: 10.36871/vet.san.hyg.ecol.202501000. EDN: CMBACJ.
16. Sammataro D, Guzman L, George S, et al. Standard methods for tracheal mite research. *Journal of Apicultural Research*. 2013;52(4). DOI: 10.3896/IBRA.1.52.4.20. EDN: RPFXSV.
17. Roberts JMK, Hall RJ, Shams F, et al. Environmental DNA Methods for Detection of *Varroa destructor* in Honey Bee (*Apis mellifera*) Hives. *Environmental DNA*. 2025;7:e70109. DOI: 10.1002/edn3.70109.
18. Ribani A, Taurisano V, Utzeri VJ, et al. Honey environmental DNA can be used to detect and monitor honey bee pests: Development of methods useful to identify *Aethina tumida* and *Galleria mellonella* infestations. *Veterinary Sciences*. 2022;9(213). DOI: 10.3390/vetsci9050213. EDN: EVXVIG.
19. Shamaev ND, Salnikov VV, Yuzmanova LA, et al. Regular occurrence of atypically small spores in *Apis mellifera carnica* (Hymenoptera: Apidae), naturally infected with *Nosema* spp. (Microsporidia). *Invertebrate Zoology*. 2024;21(4):478-486. DOI: 10.15298/invertzool.21.4.03. EDN: CYMNHY.
20. Delaplane KS, Van Der Steen J, Guzman E. Standard methods for estimating strength parameters of *Apis mellifera* colonies. *Journal of Apicultural Research*. 2013;52(1). DOI: 10.3896/IBRA.1.52.1.03.
21. Martin SJ. A population model for the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Ecological Modelling*. 1998;109:267-281. DOI: 10.1016/S0304-3800(98)00059-3. EDN: ABRJXT.
22. Fries I, Aarhus A, Hansen H, et al. Development of early infestations of *Varroa jacobsoni* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies in cold climates. *Experimental and Applied Acarology*. 1991;11:205-214. DOI: 10.1007/bf01246092. EDN: SGMOQQ.
23. Lobb N, Martin SJ. Mortality of the mite *Varroa jacobsoni* during or soon after the emergence of worker or drone honeybees. *Apidologie*. 1997;28:367-374.
24. Branco MR, Kidd NAC, Pickard RS. A comparative evaluation of sampling methods for *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) population estimation. *Apidologie*. 2006;37:452-461. DOI: 10.1051/apido:2006010.

25. Shamaev ND, 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;86(10):1056-1062. DOI: 10.1292/jvms.24-0059. EDN: DTVOJW.
26. Tamura K, Stecher G, Kumar S. MEGA 11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution*. 2021;38:3022-3027. EDN: VZCJPQ.
27. Bai WF, Lin ZG, Yan WY, et al. Haplotype analysis of *Varroa destructor* and deformed wing virus using long reads. *Frontiers in Insect Science*. 2021;1(756886). DOI: 10.3389/finsc.2021.756886. EDN: DAGMAK.
28. Kaskinova MD, Gaifullina LR, Saltykova ES, et al. Genetic markers for the resistance of honey bee to *Varroa destructor*. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii*. 2020;24(8):853-860. DOI: 10.18699/VJ 20.683. EDN: JESDFL.
29. Klochkova GA, Lutsuk SN, Chervyakov DE. Analysis of the infection of honey bees of some breeds with varroatosis in the Stavropol Region. *Actual questions of veterinary biology*. 2024;62(2):31-36. (In Russ.). DOI: 10.24412/2074-5036-2024-262-31-36. EDN: RLLYHN.
30. Al Naggat Y, Shafiey H, Paxton RJ. transcriptomic responses underlying the high virulence of black queen cell virus and sacbrood virus following a change in their mode of transmission in honey bees (*Apis mellifera*). *Viruses*. 2023;15(6).1284. DOI: 10.3390/v15061284.
31. Sagastume S, Martín-Hernández R, Higes M, et al. Multihost pathogen transmission in wild bee communities. *Hidden and Wild: An Integrated Study of European Wild Bees*. DOI: 10.1007/978-3-031-76742-5_11.

Статья принята к публикации 04.09.2025 / The article accepted for publication 04.09.2025.

Информация об авторах:

Николай Дмитриевич Шамаев, доцент кафедры паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы; старший научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории; младший научный сотрудник, кандидат биологических наук

Эдуард Аркадьевич Шуралев, старший научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории, кандидат ветеринарных наук, доцент

Малик Нилович Мукминов, профессор кафедры прикладной экологии; старший научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории, доктор биологических наук, профессор

Information about the authors:

Nikolay Dmitrievich Shamaev, Associate Professor of the Department of Parasitology and Veterinary-Sanitary Expertise; Senior Researcher of the Central Research Laboratory; Junior Researcher, Candidate of Biological Sciences

Eduard Arkadyevich Shuralev, Senior Researcher at the Central Research Laboratory, Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor

Malik Nilovich Mukminov, Professor of the Department of Applied Ecology; Senior Researcher of the Central Research Laboratory, Doctor of Biological Sciences, Professor

