

ОСОБЛИВОСТІ ФУНКЦІОНУВАННЯ РЕПРОДУКТИВНОЇ СИСТЕМИ БДЖОЛИНИХ МАТОК ЗА УМОВ ЗГОДОВУВАННЯ ЦИТРАТІВ АРГЕНТУМУ ТА КУПРУМУ

I. I. Двилюк¹, I. I. Ковальчук¹, I. V. Двилюк²
dvylyuk_ivanna@ukr.net

¹Інститут біології тварин НААН,
вул. В. Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна

²Львівський національний університет ветеринарної медицини
та біотехнологій імені С.З. Гжицького,
вул. Пекарська, 50, м. Львів, 79010, Україна

У роботі розглядаються окремі аспекти впливу стимулювальної підгодівлі медоносних бджіл на функціональну активність репродуктивної системи бджолиних маток. Метою досліджень було вивчення особливостей функціонування репродуктивної системи бджолиних маток за умов згодовування цитратів Аргентуму та Купруму, отриманих методом нанотехнології. Бджоли контрольної групи утримувалися за стаціонарних умов з підгодівлею цукровим сиропом (1000 мл/тиждень/бджолосім'ю). Бджоли дослідної групи за аналогічних умов отримували підгодівлю цукровим сиропом з додаванням у нього 0,5 мг Ag і 0,5 мг Cu у вигляді цитрату. Було проведено фотометрію запечатаного розплоду, гістологічне дослідження яєчників бджолиних маток, світлооптичну мікроскопію гістологічних зрізів, зважування та морфометрію 12-годинних яєць, отриманих з бджолиних чарунок. Встановлено, що інтенсивність середньодобової яйцекладки бджолиних маток дослідної групи, порівняно з контролем, зросла на 21,25 %. Виявлено збільшення середньої маси яєць дослідної групи на 1,4 %, 2,9 % та 5,9 % відповідно на II, III та IV етапах досліджень порівняно з контролем. У дослідній групі спостерігалась підвищена інтенсивність трофоплазматичної активності, яка проявлялася у нарощуванні жовткової маси в ооцитах. Також у контрольній групі спостерігали розвиток апоптозу трофоцитів на ранніх стадіях оогенезу і виникнення деструктивних змін в ооцитах. Таким чином, додавання цитратів Аргентуму та Купруму впродовж 36 діб спричинило зростання інтенсивності середньодобової яйцекладки бджолиних маток у дослідній групі і кількості відкладених яєць за весь період на 17,1 % порівняно з контрольною. На фоні збільшення середньої маси яєць, отриманих від бджолиних маток дослідної групи, дані гістологічного аналізу зрізів яєчника вказують на інтенсивніший перебіг оогенезу у бджолиних маток дослідної групи порівняно з контрольною, де спостерігалися ознаки пригнічення оогенезу.

Ключові слова: МЕДОНОСНІ БДЖОЛИ, БДЖОЛИНА МАТКА, РЕПРОДУКТИВНА ЗДАТНІСТЬ, ООГЕНЕЗ, ЦИТРАТ АРГЕНТУМУ, ЦИТРАТ КУПРУМУ

FEATURES OF FUNCTIONING OF THE REPRODUCTIVE SYSTEM OF HONEY BEES QUEEN AFTER FEEDING THE SILVER AND COPPER NANOPARTICLES CITRATE-BASED

I. I. Dvylyuk¹, I. I. Kovalchuk¹, I. V. Dvylyuk²
dvylyuk_ivanna@ukr.net

¹Institute of Animal Biology NAAS,
38 V. Stus str., Lviv 79034, Ukraine

²Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies named after S. Gzhytsky,
50 Pekarska str., Lviv 79010, Ukraine

The paper reviews some aspects of the stimulating feeding influence on the functional activity of the reproductive system in honeybee queens. The purpose of the research was to study the peculiarities of functioning of the reproductive system in the honeybee queens under the conditions of feeding the silver and copper citrates obtained by the nanotechnology method. Bees of the control group were kept in stationary conditions with sugar syrup feeding (1000 ml/week/bee colony). Bees of the experimental group were kept in the same conditions and were fed with sugar syrup containing the addition of 0.5 mg silver and 0.5 mg copper nanopar-

ticles citrate-based. A photometry of a capped brood, a histological examination of the ovary of the honeybee queen, an optical microscopy of histological sections, weighing and morphometry of 12-hour eggs obtained from worker bee cells was carried out. It has been established that the intensity of the average daily oviposition in the experimental group of the honeybee queens increased in comparison with the control to 21.25 %. An increase in the average weight of eggs for 1.4 %, 2.9 % and 5.9 % in the experimental group was detected, respectively, in the II, III and IV period of the study compared to the control. There was an increased activity in ovarian germ zones in queen of experimental group. In the experimental group, an increased intensity of trophoblastic activity was observed. Also in the control group, the development of apoptosis of trophocytes in the early stages of oogenesis and the appearance of destructive changes in oocytes was observed. Against the background increase of the average weight of eggs obtained from the bees of the experimental group, the histological analysis of ovarian sections indicates an intensified oogenesis in the bee mothers of the experimental group as compared to the control one, where there were signs of oppression of oogenesis.

Keywords: HONEY BEE, BEE QUEENS, REPRODUCTIVE SYSTEM, OOGENESIS, SILVER AND COPPER NANOPARTICLES CITRATE-BASED

ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ ПЧЕЛИНЫХ МАТОК В УСЛОВИЯХ СКАРМЛИВАНИЯ ЦИТРАТОВ СЕРЕБРА И МЕДИ

И. И. Двилюк¹, И. И. Ковальчук¹, И. В. Двилюк²
dvylyuk_ivanna@ukr.net

¹Институт биологии животных НААН,
ул. В. Стуса, 38, г. Львов, 79034, Украина

²Львовский национальный университет ветеринарной медицины
и биотехнологий имени С. З. Гжицкого,
ул. Пекарская, 50, г. Львов, 79010, Украина

В работе рассматриваются отдельные аспекты влияния стимулирующей подкормки медоносных пчел на функциональную активность репродуктивной системы пчелиных маток. Целью исследований было изучение особенностей функционирования репродуктивной системы пчелиных маток в условиях скармливания цитратов серебра и меди, полученных методом нанотехнологии. Пчелы контрольной группы содержались в стационарных условиях с подкормкой сахарным сиропом (1000 мл/неделю/пчелосемью). Пчелы опытной группы при аналогичных условиях получали подкормку сахарным сиропом с добавлением в него 0,5 мг Ag и 0,5 мг Си в виде цитрата. Было проведено фотометрию печатного расплода, гистологическое исследование яичников пчелиных маток, светооптическую микроскопию гистологических срезов, взвешивания и морфометрию 12-часовых яиц, извлеченных из пчелиных ячеек. Установлено, что интенсивность среднесуточной яйцекладки пчелиных маток опытной группы, по сравнению с контролем, увеличилась на 21,25 %. Выявлено увеличение средней массы яиц опытной группы на 1,4 %, 2,9 % и 5,9 % соответственно на II, III и IV этапах исследований по сравнению с контролем. Наблюдалась повышенную активность зародышевой зоны яичников пчелиных маток опытной группы. В опытной группе наблюдалась повышенная интенсивность трофоплазматичной активности, которая проявлялась в наращивании желтковой массы в ооцитах. Также у маток контрольной группы наблюдали возникновение апоптоза трофоцитов на ранних стадиях оогенеза и развитие деструктивных изменений в ооцитах. Таким образом, добавление цитратов серебра и меди в течение 36 суток привело к росту интенсивности среднесуточной яйцекладки пчелиных маток в опытной группе и количества отложенных яиц за весь период на 17,1 % в сравнении с контрольной группой. На фоне увеличения средней массы яиц, полученных от пчелиных маток опытной группы, данные гистологического анализа срезов яичника указывают на интенсивный ход оогенеза в пчелиных маток опытной группы по сравнению с контрольной, где наблюдались признаки угнетения оогенеза.

Ключевые слова: МЕДОНОСНЫЕ ПЧЕЛЫ, ПЧЕЛОМАТКА, РЕПРОДУКТИВНАЯ СПОСОБНОСТЬ, ООГЕНЕЗ, ЦИТРАТ СЕРЕБРА, ЦИТРАТ МЕДИ

Відомо, що для бджільництва важливе значення має репродуктивна активність бджолиних маток [9]. Це визначально для збере-

ження бджолиної сім'ї, а також для ефективної реалізації господарсько-корисних ознак робочих медоносних бджіл. Власне активний

розвиток бджолої сім'ї у льотний період дозволяє забезпечувати генетичний прояв продуктивності за умов наявності матки з високою інтенсивністю яйцекладки [2].

З літературних даних відомо, що яйцекладка бджолої маток залежить від багатьох чинників, серед яких за природного способу отримання бджолої маток можна виокремити: породу бджіл, вік, якість і кількість маточного молочка, яким їх годують бджологодувальниці, кормову базу, технологію ведення бджільництва, погодні умови [14]. За штучної репродукції до перерахованих вище факторів додаються вік племінних личинок, спосіб, умови репродукції і запліднення маток [15]. Проте залишається ще багато нез'ясованих питань щодо функціональної активності репродуктивної системи бджолої маток. Сучасні наукові дослідження у галузі бджільництва спрямовані на інтенсивний пошук нових способів і засобів коригування репродуктивної активності бджолої маток. З цієї метою дедалі частіше вдаються до інтенсивнішого залучення окремих біотичних мінеральних елементів. Особливої уваги заслуговує вивчення впливу макро- і мікроелементів у формі цитратів на репродуктивну функцію маток, зокрема сполук Аргентуму і Купруму [6, 11, 12]. Застосування таких сполук характеризується високим рівнем біодоступності, що дозволяє суттєво зменшити концентрацію діючої речовини, токсичні та інші побічні впливи, тим самим забезпечити значний економічний і екологічний ефекти [4, 5, 7].

Тому метою досліджень було вивчення особливостей функціонування репродуктивної системи бджолої маток за умов згодовування цитратів Аргентуму та Купруму, отриманих методом нанотехнології.

Матеріали і методи

Для досягнення поставленої мети було проведено дослідження на базі пасіки Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. У досліді використали ранньовесняні відводки-аналоги бджіл карпатської породи з урахуванням сили, кількості запечатаного розплоду, запасів меду та перги, сформова-

ні з однорічних маток-сестер. Було сформовано дві групи бджолої сімей по три у кожній групі. Бджолої сім'ї контрольної і дослідної груп утримувалися у багатокорпусних вуликах системи Лангстрота-Рута. Бджолам контрольної групи (І) згодовували цукровий сироп (1000 мл/тиждень/бджолої сім'ю), ІІ дослідна група за аналогічних умов отримувала цукровий сироп з додаванням цитратів Аргентуму та Купруму в дозах 0,5 мг кожного на 1000 мл цукрового сиропу на бджолої сім'ю. Мікроелементи додавали до цукрового сиропу у вигляді цитратів, виготовлених методом нанотехнології, отриманих від ТОВ «Наноматеріали і нанотехнології» (м. Київ). Підгодівлю бджолої сімей проводили за допомогою внутрішньогніздових годівниць. Активність репродуктивної системи бджолої маток визначали за показником їх інтенсивності середньодобової яйцекладки при фотометричному підрахунку запечатаного розплоду [3]. Підрахунки проводили через кожні 12 днів. На 36-ий день проводили відбір дослідних бджолої маток для гістологічного дослідження їхніх яєчників. Зважування 12-годинних яєць, отриманих з бджолої чарунок, проводили на лабораторній електронній вазі серії *ANG.C* виробництва фірми «*AXIS*».

Для гістологічного дослідження яєчників бджолої маток черевце кожної матки було відпрепаровано під стереомікроскопом МБС-10, правий і лівий яєчники видалено і перенесено до фіксатора Буена на 24 год. Після матеріал промивали у змінних порціях 70 ° спирту до його цілковитого знебарвлення. Фрагменти відібраних тканин зневоднювали у висхідному ряді спиртів із подальшою орієнтацією та заливкою у парафіні за загальноприйнятою методикою [1, 8, 10, 13]. З парафінових блоків виготовляли гістозрізи товщиною 7 мкм на санному мікротомі МС-2, які фарбували гематоксиліном Майєра та 0,1 % розчином еозину на 70 ° етанолі, після чого проводили аналіз гістологічної структури. Дослідження і мікрофотографування гістологічних препаратів проводили методом світлооптичної мікроскопії з використанням мікроскопа *Leica DM-2500* (Німеччина) та фотокамери *Leica DFC450C* і програмного забезпечення *Leica Application Suite Version 4.4*.

Для зручності проведення порівняльного аналізу перебігу оогенезу було виділено 4 стадії його розвитку: I — утворення яйцевих камер з вираженим шаром фолікулярного епітелію, де ядро ооцита займає центральне положення; II — ооцит займає менш, ніж половину яєчної камери зі зміщенням ядра від центру до периферії, фолікулярні клітини врастають між ооцитом і трофічними клітинами, утворюючи перегородку; III — період вітеллогенезу, при якому ооцит займає половину або більше обсягу яйцевої камери, а трофоцити поступово дегенеруються; IV — повністю сформований, зрілий ооцит без трофічних клітин.

Статистичну обробку отриманих результатів проведено з використанням комп'ютерної програми *Microsoft Excel* з визначенням середніх величин M , їхніх відхилень $\pm m$ і ступеня вірогідності міжгрупових різниць з використанням критерію Ст'юдента (P).

Результати й обговорення

Оцінка інтенсивності середньодобової яйцекладки бджолиних маток у ранньовесняний період за умов згодовування цитратів Аргентуму та Купруму, отриманих методом нанотехнології, разом з цукровим сиропом вказує на вірогідні відмінності яйцекладки у бджолиних маток дослідної групи порівняно з контролем (табл.). Порівняльною оцінкою інтенсивності яйцекладки бджолиних маток у підготовчий період було виявлено різницю початкової кількості відкладених яєць бджолиних маток II (103 %) дослідної групи порівняно з контролем. Підрахунок запечатаних чарунок розплідної частини бджолиної сім'ї з інтервалом у 12 діб виявив виражену дію цитратів Аргентуму та Купруму на інтенсивність яйцекладки бджолиних маток у II дослідній групі ($P < 0,001$) порівняно з контролем. Аналіз результатів підрахунку запечатаного бджолиного розплоду вказує на вірогідне зростання кількості відкладених яєць за добу на 12 % у бджолиних маток дослідної групи за другої 12-добовий етап порівняно з контролем.

З іншого боку, встановлено зростання інтенсивності відкладання яєць бджолиними матками відповідно до I етапу дослідження за перші 12 діб згодовування добавок у всіх

групах, що становило 115 % у контрольній та 125 % у дослідній групах.

Результати наступного 12-добового етапу підрахунку кількості запечатаного розплоду вказують на вірогідне підвищення рівня яйцекладки у маток II групи (118 %, $P < 0,001$) порівняно з контролем. Варто зазначити, що зростання інтенсивності яйцекладки бджолиними матками відповідно до II етапу дослідження за наступні 12 днів згодовування цитратів Ag і Cu було найвищим і становило у контролі 132 %, у II дослідній групі — 139 %.

На четвертому етапі спостерігалось вірогідне зростання середньодобової яйцекладки у бджолиних маток II дослідної групи до 121,25 % ($P < 0,001$) порівняно з контрольною. Різниця з попереднім етапом становила 15,30 % у контрольній та 17,95 % у дослідній групі.

Аналіз метричних показників яєць бджолиних маток вказує на збільшення середньої маси яйця на 1,4 %, 2,9 % і 5,9 % відповідно у II, III та IV дослідному етапі порівняно з контролем. Окрім цього, морфометричні показники 12-годинних яєць характеризувалися збільшенням їхніх лінійних розмірів, зокрема довжини яйця на 1,2 % і ширини на 1,8 % у дослідній групі порівняно з контролем.

Початковий етап оогенезу в зоні гермафію характеризувався утворенням значної кількості недиференційованих клітин — оогоній з прямокутними секціями, зі сферичними центральними ядрами, характерними для клітинної організації цього відділу в обох групах.

Цитоплазма і ядра цих клітин погано забарвлювалися гематоксилином та еозином. Ооплазма молодих ооцитів була гомогенно гранульована з центральним розташуванням ядра. Потрібно зауважити, що у дослідній групі спостерігався інтенсивніший розвиток цистоцитів у зародковій ділянці, що, відповідно, відобразилося на активній диференціації клітин зародкової зони. У гістологічних препаратах яєчників плідних бджоломаток спостерігали два типи змін. З одного боку, були явні ознаки посилення активності зародкового шару у дослідній групі. З іншого боку, у контрольній групі досить часто знаходили трофоцити з гіперхромними зменшеними пікнотичними ядрами. В останніх також спостерігали клітини зі слабо забарвле-

Фізіологічні та морфологічні показники функціонування репродуктивної системи бджолиних маток ($M \pm m$, $n=3$)
Physiological and morphological indices of the functioning of the reproductive system in honeybee queens ($M \pm m$, $n=3$)

Дата проміру, 12-денні етапи досліджень Day of measurement, 12-day stages of research	Показник / Index	I група (контрольна) I group (control)	II група (дослідна) II group (experimental)	% до контролю % to control
<i>Підготовчий період / Preparatory period</i>				
13.04.2016 I етап / 1 st stage	Інтенсивність середньодобової яйцекладки бджолиної матки, шт. Average daily egg-laying of the honeybee queen, pcs	462 \pm 2,40	478 \pm 6,88	103,46
	Кількість яєць за 12 діб, шт / Number of eggs during 12 days, pcs	5557 \pm 29,46	5744 \pm 82,65	—
	Маса яйця, мг / Egg weight, mg	0,138 \pm 0,001	0,139 \pm 0,002	100,72
	Довжина яйця, мкм / Egg length, μ m	1547,24 \pm 29,48	1561,96 \pm 17,82	100,95
	Ширина яйця, мкм / Egg width, μ m	331,71 \pm 12,03	334,15 \pm 28,16	100,74
<i>Дослідний період / Research period</i>				
25.04.2016 II етап / 2 nd stage	Інтенсивність середньодобової яйцекладки бджолиної матки, шт. Average daily egg-laying of the honeybee queen, pcs	532 \pm 7,31	599 \pm 21,31*	112,60
	Кількість яєць за 12 діб, шт / Number of eggs during 12 days, pcs	6397 \pm 89,61	7201 \pm 44,81*	
	% до I етапу / % to the 1 st stage	115,15	125,31	—
	Маса яйця, мг / Egg weight, mg	0,139 \pm 0,021	0,141 \pm 0,014*	101,44
	% до I етапу / % to the 1 st stage	100,72	101,44	—
	Довжина яйця, мкм / Egg length, μ m	1539,35 \pm 36,29	1573,22 \pm 43,08*	102,20
	Ширина яйця, мкм / Egg width, μ m	334,83 \pm 47,22	337,26 \pm 11,14*	100,73
07.05.2016 III етап / 3 rd stage	Інтенсивність середньодобової яйцекладки бджолиної матки, шт. Average daily egg-laying of the honeybee queen, pcs	706 \pm 3,48	837 \pm 7,31***	118,55
	Кількість яєць за 12 діб, шт / Number of eggs during 12 days, pcs	8480 \pm 41,47	10050 \pm 88,96***	—
	% до II етапу / % to the 2 nd stage	132,71	139,73	—
	Маса яйця, мг / Egg weight, mg	0,138 \pm 0,023	0,142 \pm 0,012*	102,90
	% до II етапу / % to the 2 nd stage	99,28	99,29	—
	Довжина яйця, мкм / Egg length, μ m	1534,20 \pm 34,44	1575,35 \pm 21,23**	102,68
19.05.2016 IV етап / 4 th stage	Інтенсивність середньодобової яйцекладки бджолиної матки, шт. Average daily egg-laying of the honeybee queen, pcs	814 \pm 3,75	987 \pm 4,63***	121,25
	Кількість яєць за 12 діб, шт / Number of eggs during 12 days, pcs	9781 \pm 45,32	11857 \pm 57,34***	
	% до III етапу / % to the 3 rd stage	115,30	117,90	—
	Маса яйця, мг / Egg weight, mg	0,135 \pm 0,031	0,143 \pm 0,009***	105,93
	% до III етапу / % to the 3 rd stage	97,83	100,71	—
	Довжина яйця, мкм / Egg length, μ m	1521,32 \pm 69,31	1581,07 \pm 22,11**	103,93
	Ширина яйця, мкм / Egg width, μ m	325,94 \pm 36,07	340,21 \pm 16,12**	104,38
Всього відкладено яєць за обліковий період, шт / Total eggs laid during the accounting period, pcs		90647	105166	117,12

Примітка: * — $P < 0,05$, ** — $P < 0,01$, *** — $P < 0,001$.

Note: * — $P < 0.05$, ** — $P < 0.01$, *** — $P < 0.001$.

ною цитоплазмою внаслідок посиленої вакуолізації та зменшенням базofil'ної зернистості в клітинах. Слід зазначити, що після формування диференційованих цистоцитів в обох групах спостерігався активний ріст ооцитів, який проявлявся у різкому нагромадженні ними ооплазми, а також збільшенні самої яєчної камери з вираженою поляризацією цистоцитів та центральним розміщенням ядра в ооцитах. Проте, на відміну від дослідної групи, у бджолиних маток контрольної групи на I стадії розвитку після утворення диференційованих цистоцитів превітелогенез був уповільнений (рис. 1).

Інтенсивність визрівання ооцитів і формування яйцеклітин, яка спостерігалася у сагітальних гістологічних зрізах вітеллярної зони плідних бджолиних маток дослідної групи, була значно вищою, ніж у контрольній, яка ха-

рактеризувалася більшою кількістю яйцеклітин в полях зору. Окрім цього, в дослідній групі спостерігали підвищену інтенсивність трофоплазматичної активності, яка проявлялася у нарощуванні жовткової маси в ооцитах. Відповідно, перебіг оваріальних циклів у бджоломаток дослідної групи характеризувався більшою активністю, що відображалось у швидшому визріванні ооцитів (рис. 2).

Слід зазначити, що перебіг трофоплазматичного росту у дослідних групах загалом характеризувався стабільністю аж до завершення самої функціональної необхідності трофоцитів. На відміну від дослідної групи, у контролі спостерігалися випадки розвитку апоптозу трофоцитів на ранніх стадіях оогенезу, що в подальшому призводило до припинення їхньої трофічної функції та,

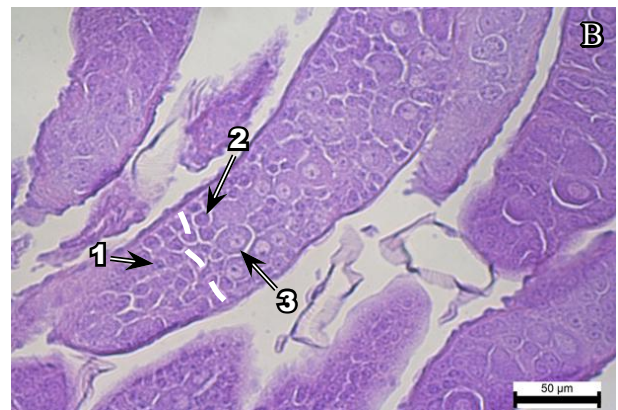
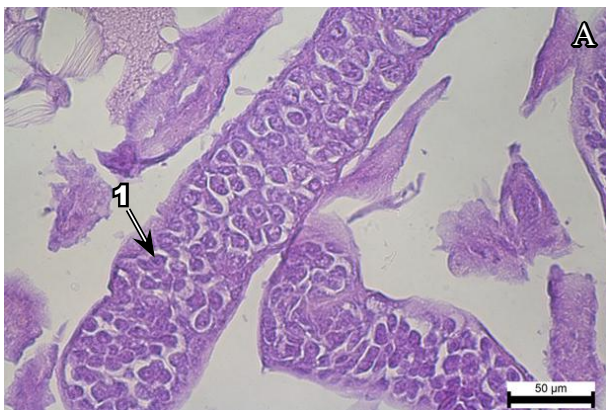


Рис. 1. Сагітальний зріз яєчника плідної бджолиної матки у дистальній зоні. А — контроль, В — дослідна група. 1 — цистоцити, 2 — зона активного трофоплазматичного росту, 3 — ооцит у фазі інтенсивного вітелогенезу. Г×Е, ×400

Fig. 1. Sagittal section of the ovary mated honeybee queen in the distal zone. A — control, B — research group. 1 — cystocyte, 2 — zone of active trophoplasmic growth, 3 — oocyte in the phase of intense vitellogenesis. G×E, ×400

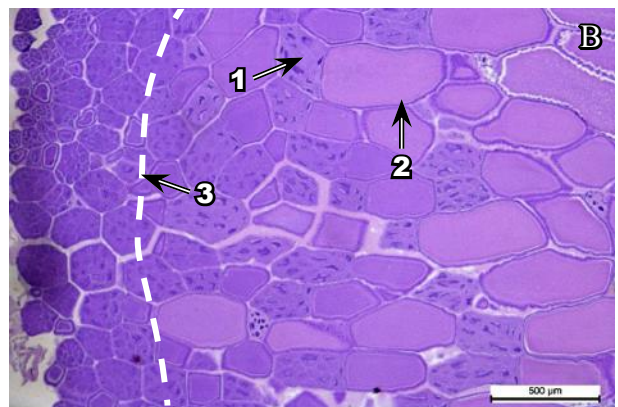
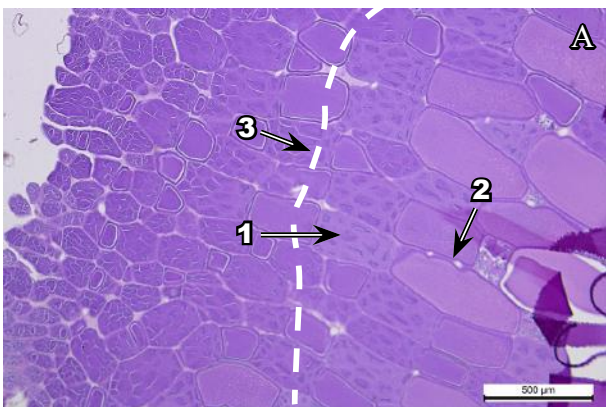


Рис. 2. Сагітальний зріз яєчника вітеллярної зони плідної бджолиної матки. А — контроль, В — дослідна група. 1 — трофоцит, 2 — ооцит, 3 — зона завершального періоду вітелогенезу ооциту. Г×Е, ×50

Fig. 2. Sagittal section of vitellarium zone in the ovary of mated honeybee queen. A — control, B — research group. 1 — trophocyte, 2 — oocyte, 3 — zone of the final period of vitellogenesis of oocytes. G×E, ×50

відповідно, завершення визрівання ооцитів (рис. 3) і навіть до їх лізису. У деяких ядрах спостерігалася базofilія та гіперхромність.

В обох групах спостерігаються процеси дегенерації допоміжних клітин, яка супроводжувалася загибеллю значної кількості клітинних мас. При цьому плазматична мембрана залишалася цілою з формуванням апоптичних тілець, які в подальшому фагоцитуються навколишніми клітинами. Відповідно, спостерігалася стиснення клітин, конденсація хроматину, формування апоптотичних тілець та ознаки фагоцитарної активності на завершальній стадії (рис. 4).

Проте надмірна вираженість цих деструктивних процесів найбільше спостерігалася у контрольній групі, що проявлялося передчасним розвитком апоптозу трофоцитів на середній стадії оогенезу і, як наслідок, зрілі ооцити

нагромаджували меншу кількість поживних речовин; відповідно, сформоване яйце потенційно мало менші ознаки життєздатності.

Окрім цього, ооцити дослідної групи характеризувалися вищим рівнем оптичної щільності ооплазми з відсутністю як підвищеної вакуолізації, так і базofilіної зернистості з різко вираженим міжфолікулярним просвітленням (рис. 5).

Порівнюючи ооцити бджолиних маток дослідної і контрольної груп, тільки у вітеллярній зоні контрольної групи спостерігали ділянки з руйнуванням фолікулярного епітелію, деформацією ооплазми у вигляді зморщувань та заміщення ооплазми некротичною масою — клітинним детритом. Слід зазначити, що між окремими ооцитами контрольної групи спостерігалася збільшення міжоваріального про-

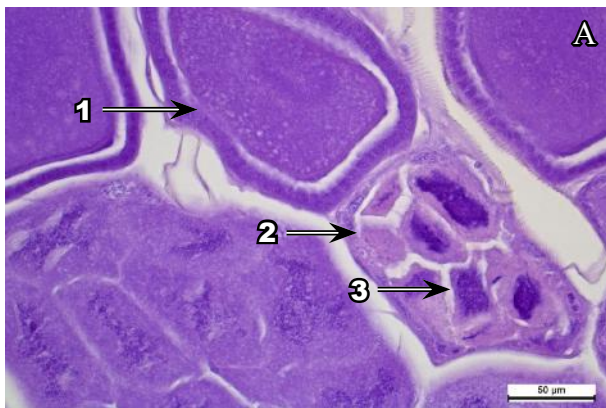


Рис. 3. Початкова стадія апоптозу трофоцитів. А — контроль, В — дослідна група.
1 — ооцит, 2 — трофоцит, 3 — гіперхромність ядер трофоцитів. Г×Е, ×400

Fig. 3. The initial stage of apoptosis of trophocytes. A — control, B — research group.
1 — oocyte, 2 — trophocyte, 3 — hyperchromicity of nuclei of trophocytes. G×E, ×400

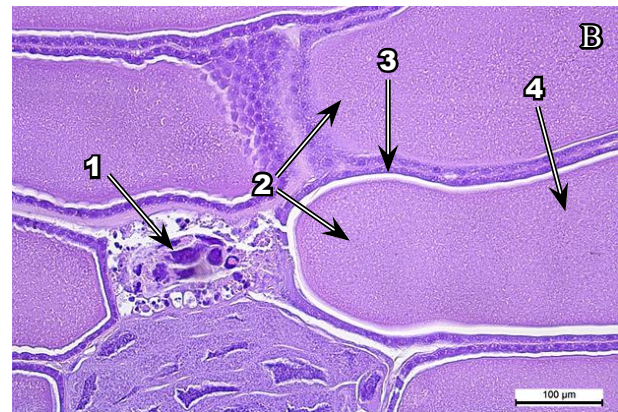
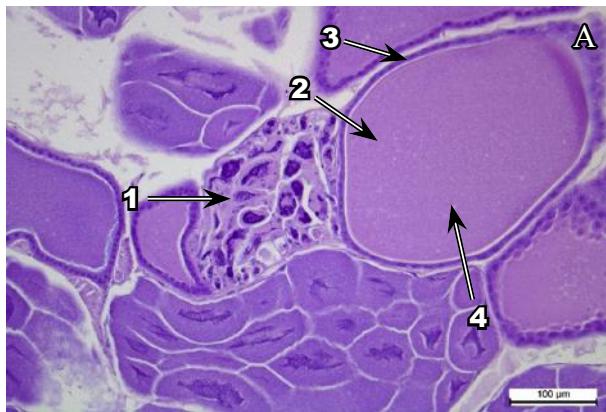


Рис. 4. Сагітальний зріз яєчника плідної бджолиної матки. А — контроль, В — дослідна група.
1 — апоптоз трофоцитів, 2 — сформований ооцит, 3 — хоріон, 4 — жовток. Г×Е, ×200

Fig. 4. Sagittal section of the ovary mated honeybee queen. A — control, B — research group.
1 — apoptosis of trophocytes, 2 — formed oocyte, 3 — chorion, 4 — yolk. G×E, ×200

стору. Також у зрізах яєчників бджолиних маток дослідної групи спостерігалось інтенсивніше нагромадження вітелогініну, ніж у бджолиних маток контрольної групи.

У зрізах яєчників дослідної групи фолікулярний епітелій зберігав свою цілісність без руйнування оболонки ооцитів з ушкодженням фолікулярного епітелію, яке проявлялося у вигляді каріопікнозу ядер епітеліальних клітин з різкою базофілією та утворенням з міжфолікулярним епітелієм і жовтком зони просвітлення, які поодинокі могли траплятися у гістологічних зрізах яєчників контроль-

ної групи. Також ооцити контрольної групи могли зазнавати різкої деформації та набувати неправильної форми. Деформація ооцитів проявлялася у їх зморщуванні. Крім цього, в зоні інтенсивного вітелогенезу у маток контрольної групи спостерігалися ділянки клітинної реакції зі сторони макрофагальної системи з появою у міжоваріальному просторі оксифільних гомогенних мас з незначною кількістю клітинних елементів (рис. 6).

Ці явища супроводжувалися поодинокими руйнуваннями ооцитів із заміщенням ооплазми клітинами фолікулярного епітелію.

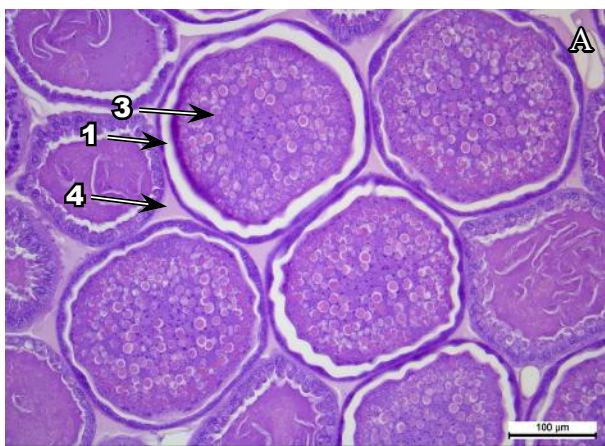


Рис. 5. Фронтальний зріз яєчника плідної бджолиної матки. А — контроль, В — дослідна група.

1 — ооцит, 2 — трофоцит, 3 — ооплазма, 4 — міжоваріальний простір. Г×Е, ×200

Fig. 5. Frontal section of the ovary mated honeybee queen in the proximal zone. A — control, B — research group.

1 — oocyte, 2 — trophocyte, 3 — ooplasm, 4 — interovarian space. G×E, ×200

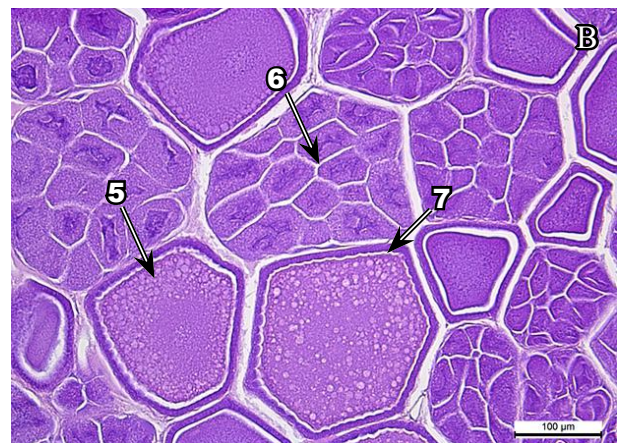
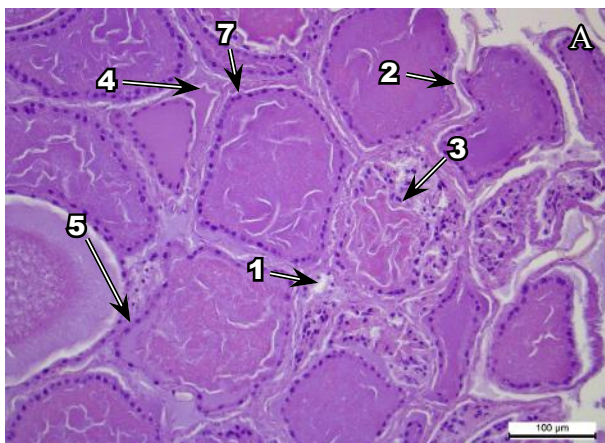


Рис. 6. Фронтальний зріз яєчника бджолиної матки. А — контроль, В — дослідна група.

1 — дистрофія фолікулярного епітелію, 2 — деформація ооцитів, 3 — руйнування ооцитів із заміщенням ооплазми клітинними елементами, 4 — заповнення міжоваріального простору оксифільними масами, 5 — ооцит, 6 — трофоцит, 7 — фолікулярний епітелій. Г×Е, ×200

Fig. 6. Frontal section of the ovary mated honeybee queen in the proximal zone. A — control, B — research group.

1 — follicular epithelium dystrophy, 2 — deformation of oocytes, 3 — destruction of oocytes with replacement of ooplasm by cellular elements, 4 — filling the interovarian space with oxyphilic masses, 5 — oocyte, 6 — trophocyte, 7 — follicular epithelium. G×E, ×200

Відповідно, спостерігалися фрагменти з порушенням структурованості фолікулярного епітелію з характерною оксифільністю оваріальної оболонки. У деяких ооцитах спостерігали вакуолізацію ооплазми у формі множинних оксифільних глобул з елементами клітинного детриту.

Висновки

За впливу наноцитратів Аргентуму і Купруму зростає інтенсивність функціонування репродуктивної системи бджіл. Це проявляється збільшенням загальної кількості яєць, відкладених бджолиними матками дослідної групи протягом усього періоду спостережень, на 17,12 %; середньої маси яєць, отриманих від бджолиних маток дослідної групи, порівняно з контрольною, на 1,4 %, 2,9 % та 5,9 % відповідно у II, III, та IV дослідних етапах. У дистальному відділі оваріол дослідної групи спостерігається інтенсивний розвиток клітин гермарію, що проявляється у формі їх множинного проростання.

Гістологічні особливості яєчників бджолиних маток, бджолиним сім'ям, яких згодовували цитрати Аргентуму та Купруму, отримані методом нанотехнології, характеризуються інтенсивнішим ростом ооцитів, що проявляється накопиченням ооцитарної маси та, відповідно, підвищеною трофоцитарною активністю.

Починаючи з другої стадії розвитку ооцитів і завершуючи четвертою стадією, апоптично змінені трофоцити в полі зору мікроскопа у бджоломаток дослідної групи трапляються рідше порівняно з контролем.

Перспективи подальших досліджень.

Представлені результати є одним із етапів досліджень впливу наноцитратів Ag і Cu на репродуктивну систему бджолиних маток і відкривають перспективи для досліджень, розроблення та впровадження їх у бджільництво.

1. Barbosa P., Berry D. L., Kary Ch. S. *Insect Histology: Practical Laboratory Techniques*. Wiley blackwell, 2015, 380 p. DOI: 10.1002/9781118876114. (in Ukrainian)
2. Brandorf A. Z., Ivoylova M. M. Oviposition of queens in the assessment of honey productivity and winter hardiness of honey bee colony. *Beekeeping*, 2012, issue 6, pp. 16–18. (in Russian)
3. Dvylyuk I. V., Kovalchuk I. I., Dvylyuk I. I., Chervinka K. A. Method of photometry of sealed breeder of bees. Patent UA no. 122394, 2018. (in Ukrainian)
4. Fedorov I. Silver nanoparticles. *Newsletter of innovations*, 2005, vol. 1 (2), pp. 25–31. (in Russian)
5. Glushchenko N., Bohoslovskaya O., Olkhovskaya I. Comparative toxicity of salts and nanoparticles of metals and the peculiarity of their biological action. *Proceeding of the International scientific and practical conference "Nanotechnology and information technologies — technologies of the 21st century"*, Moscow, 2006, pp. 93–95. (in Russian)
6. Nemova T. Prospects of application chemical agents on the basis of nanotechnology in veterinary medicine. *Veterinary medicine of Ukraine*, 2013, issue 1, pp. 35–37. (in Ukrainian)
7. Pestovsky Y. S., Martinez-Antonio A. The use of nanoparticles and nanoformulations in agriculture. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 2017, vol. 17, issue 12, pp. 8699–8730. DOI: 10.1166/jnn.2017.15041.
8. Pishak V., Fedonyuk L. Ya., Fedonyuk V. V. *Histology with the basics of histological technology*. Kyiv, Kondor, 2008, 400 p. (in Ukrainian)
9. Rangel J., Keller J. J., Tapy D. R. The effects of honey bee (*Apis mellifera* L.) queen reproductive potential on colony grows. *Insectes Sociaux*, 2013, vol. 60, pp. 65–73. DOI: 10.1007/s00040-012-0267-1.
10. Romais B. *Microscopic technique*. Moscow, Publishing House of Foreign Literature, 1953, 718 p. (in Russian)
11. Savenkova O. Morphological aspects of the influence of nanoproducts on an organism. *Bulletin of problems of biology and medicine*, 2012, vol. 1, issue 3, pp. 10–14. (in Ukrainian)
12. Shatorna V., Haretz V., Savenkova O., Kolosova I. The influence of heavy metals and nanometals to the condition of reproductive function in experiment. *Tavrychesky medyko-byolohychesky vestnyk*, 2013, vol. 16, issue 1–1, pp. 246–250. (in Ukrainian)
13. Silva-Zacarin E. C. M., Chauzat M. P., Zeggane S., Drajnudel P., Schurr F., Faucon J. P., Malaspina O., Engler J. A. Protocol for optimization of histological, histochemical and immunohistochemical analyses of larval tissues: application in histopathology of honey bee. *Current Microscopy Contributions to Advances in Science and Technology*, 2012, pp. 696–703.
14. Vasiliadi G. K. *The development of queen bees and factors affecting their quality*. Rossagropromizdat, 1991, 77 p. (in Russian)
15. Voynalovich M. V., Brovarsky V. D. Morphological changes in ovaries of the honeybees queens. *Livestock in Ukraine*, 2008, vol. 10, pp. 35–40. (in Ukrainian)